

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No

PCT/FR 99/03141

## A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

IPC 7 C12Q1/68 G01N33/543

RECEIVED

OCT 26 2001

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

## B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

IPC 7 C12Q G01N

TECH CENTER 1600/2900

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

## C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	US 5 837 859 A (ROGET ANDRE ET AL) 17 November 1998 (1998-11-17)	1-6, 10-17, 19,20
Y	the whole document	8
X	LIVACHE T ET AL.: "Preparation of a DNA matrix via an electrochemically directed copolymerization of pyrrole and oligonucleotides bearing a pyrrole group" NUCLEIC ACIDS RESEARCH, vol. 22, no. 15, 1994, pages 2915-2921, XP002114812 the whole document	1,5,6, 10-14, 16,17, 19,20



Further documents are listed in the continuation of box C.



Patent family members are listed in annex.

## \* Special categories of cited documents:

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier document but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.

"&amp;" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

15 March 2000

Date of mailing of the international search report

22/03/2000

Name and mailing address of the ISA

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2  
NL - 2280 HV Rijswijk  
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,  
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Knehr, M

# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No

PCT/FR 99/03141

## C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	LIVACHE T ET AL.: "Electroconducting polymers for the construction of DNA or peptide arrays on silicon chips" BIOSENSORS & BIOELECTRONICS, vol. 13, 1998, pages 629-634, XP000869823 the whole document	1-3, 19, 20
X	LIVACHE T ET AL.: "Polypyrrole DNA chip on a silicon device: Example of hepatitis C virus typing" ANALYTICAL BIOCHEMISTRY, vol. 255, 1998, pages 188-194, XP002114813	1-3, 19, 20
Y	abstract page 188, column 1, paragraph 1 -page 190, column 1, paragraph 1; figures 1,2 page 191, column 1, paragraph 1 -page 192, column 2, paragraph 3	6, 8, 10
Y	EP 0 229 993 A (POLAROID CORP) 29 July 1987 (1987-07-29)  the whole document	1-4, 6-8, 10-12, 19, 20
Y	US 5 653 939 A (KOSICKI BERNARD B ET AL) 5 August 1997 (1997-08-05) abstract column 11, line 11 - line 65; claims 1-9; figures 15, 16, 21, 22	1-4
Y	EP 0 588 721 A (COMMISSARIAT ENERGIE ATOMIQUE) 23 March 1994 (1994-03-23) the whole document	1-3, 7
Y	US 5 810 989 A (KRIHAK MICHAEL ET AL) 22 September 1998 (1998-09-22) the whole document	1-3, 10
Y	SIMON R A ET AL.: "Synthesis and characterization of a new surface derivatizing reagent to promote the adhesion of polypyrrole films to n-type silicon photoanodes: N-(3-(Trimethoxysilyl)propyl)pyrrole" JOURNAL OF THE AMERICAN CHEMICAL SOCIETY, vol. 104, 1982, pages 2031-2034, XP002114814 cited in the application the whole document	8, 9, 11, 12

-/--

# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No.

PCT/FR 99/03141

## C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y ✓	<p>GUISEPPI-ELIE A AND WILSON A M: "Specific immobilization of electropolymerized polypyrrole thin films onto interdigitated microsensor electrode arrays"</p> <p>LANGMUIR, vol. 11, 1995, pages 1768-1776, XP002114815 abstract</p> <p>---</p>	8,9,11, 19,20
A ✓	<p>NISHIZAWA M ET AL.: "Electrochemical preparation of ultrathin polypyrrole film at microarray electrodes"</p> <p>JOURNAL OF PHYSICAL CHEMISTRY, vol. 95, 1991, pages 9042-9044, XP002114816 the whole document</p> <p>---</p>	
A ✓	<p>EP 0 659 794 A (LORRAINE LAMINAGE) 28 June 1995 (1995-06-28) the whole document</p> <p>---</p>	
A ✓	<p>EP 0 038 244 A (COMMISSARIAT ENERGIE ATOMIQUE) 21 October 1981 (1981-10-21) the whole document</p> <p>---</p>	
P,X ✓	<p>BIDAN G ET AL.: "Conducting polymers as a link between biomolecules and microelectronics"</p> <p>SYNTHETIC METALS, vol. 102, 1999, pages 1363-1365, XP002114817 the whole document</p> <p>-----</p>	1,2,19, 20

# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No

PCT/FR 99/03141

Patent document cited in search report		Publication date	Patent family member(s)	Publication date
US 5837859	A	17-11-1998	FR 2703359 A	07-10-1994
			AT 159028 T	15-10-1997
			DE 69406119 D	13-11-1997
			DE 69406119 T	26-03-1998
			DK 691978 T	25-05-1998
			EP 0691978 A	17-01-1996
			ES 2110228 T	01-02-1998
			WO 9422889 A	13-10-1994
			GR 3025738 T	31-03-1998
			JP 8508311 T	03-09-1996
EP 0229993	A	29-07-1987	CA 1311715 A	22-12-1992
			JP 62181328 A	08-08-1987
			US 4724053 A	09-02-1988
US 5653939	A	05-08-1997	US 5846708 A	08-12-1998
			EP 0638173 A	15-02-1995
			JP 7508831 T	28-09-1995
			WO 9322678 A	11-11-1993
			AT 176324 T	15-02-1999
			DE 69228291 D	11-03-1999
			DE 69228291 T	02-06-1999
			EP 0543550 A	26-05-1993
			JP 5322817 A	07-12-1993
			US 5532128 A	02-07-1996
			US 5670322 A	23-09-1997
			US 5891630 A	06-04-1998
EP 0588721	A	23-03-1994	FR 2696043 A	25-03-1994
			JP 6188109 A	08-07-1994
US 5810989	A	22-09-1998	NONE	
EP 0659794	A	28-06-1995	FR 2714077 A	23-06-1995
			AT 177444 T	15-03-1999
			DE 69416971 D	15-04-1999
			DE 69416971 T	07-10-1999
			ES 2131654 T	01-08-1999
			JP 7331491 A	19-12-1995
			US 5522981 A	04-06-1996
EP 0038244	A	21-10-1981	FR 2480314 A	16-10-1981

## PROCEDE DE FABRICATION D'UNE BIOPUCE ET BIOPUCE

### Domaine technique de l'invention

La présente invention se rapporte à un procédé  
5 de fabrication d'une biopuce et à une biopuce, ladite  
biopuce étant constituée notamment de sondes  
biologiques greffées sur un polymère conducteur.

Les dispositifs d'analyse biologique, par  
exemple de type puce à ADN, constituent des outils  
10 performants pour l'analyse en parallèle d'un grand  
nombre de gènes ou de séquences d'ADN ou d'ARN. Leur  
principe de fonctionnement repose sur la propriété  
d'hybridation ou d'appariement de deux brins de  
séquences complémentaires afin de reconstituer la  
15 double hélice d'ADN. Pour ce faire, des sondes  
d'oligonucléotides de séquence connue, immobilisées sur  
un substrat support, sont mises en présence de cibles  
extraites d'un échantillon biologique à analyser, et  
marquées à l'aide de marqueurs fluorescents.

20 L'hybridation est ensuite repérée et la  
séquence détectée par analyse de la surface de la puce  
par un marqueur approprié par exemple permettant de  
détecter la séquence par fluorescence.

Des technologies très différentes ont été  
25 utilisées pour la réalisation de ces matrices de  
sondes. Diverses techniques d'immobilisation ou de  
greffage des sondes sur des substrats différents ont  
fait l'objet d'études et de développements industriels  
importants.

30

### Etat de l'art antérieure

Il existe principalement trois méthodes  
d'adressage de sondes chimiques qui constituent des

approches différentes de réalisation et d'utilisation de sondes pour différents domaines d'application. Il s'agit de l'adressage photochimique, de l'adressage mécanique, par exemple par micropipetage à l'aide d'un robot disperseur, et de l'adressage électrochimique.

Par exemple, l'adressage électrochimique peut être utilisé pour les sondes d'oligonucléotides. Pour ce faire, des matrices d'électrodes adressées individuellement sont réalisées sur un substrat de verre.

Le principe d'immobilisation des sondes biologiques repose sur un dépôt par électropolymérisation d'un copolymère de pyrrole et de pyrrole substitué par un oligonucléotide (Py-ODN), portant un oligonucléotide greffé sur un noyau de pyrrole soit directement, soit indirectement par l'intermédiaire d'un espaceur.

Dans le but de développer des systèmes d'analyse biologique massivement parallèles, à grande capacité ou densité de sites actifs, il est nécessaire de pouvoir adresser individuellement un nombre important de sondes.

Les procédés utilisant un adressage électrochimique nécessitent à la fois une matrice importante d'électrodes et de connexions et un multiplexeur pour indexer électriquement chacun des sites de la puce. De plus, dans ces procédés, il faut réaliser l'électropolymérisation par trempage de la puce entière successivement dans des solutions de chacun des Py-ODN contenus dans la cellule. Ces procédés sont donc limités à des puces de faible densité, c'est-à-dire d'environ une centaine de sondes, pour des applications limitées et spécifiques.

D'autres procédés ont encore été décrits dans l'art antérieur remplaçant avantageusement l'adressage électrique individuel par un adressage mécanique. Il reste cependant un inconvénient, celui de réaliser des électropolymérisations dans des microcuvettes, avec un volume de solution de l'ordre du nanolitre, pour lequel il est nécessaire de retarder l'évaporation après micropipetage de l'ensemble des sondes sur la plaquette afin que l'électropolymérisation puisse se faire.

10

#### Exposé de l'invention

La présente invention a précisément pour but de résoudre les problèmes précités en fournissant un procédé de fabrication d'une biopuce constituée notamment de sondes biologiques greffées sur un polymère conducteur, ledit procédé présentant notamment l'avantage de ne nécessiter l'utilisation que d'une seule solution d'un mélange en proportion adéquate de pyrrole et de pyrrole substitué (Py et Py-R-F ou F et une fonction chimique réactive et R est un groupement espaceur aliphatique ou aromatique) pour une seule électrodéposition collective sur l'ensemble des microcuvettes.

20

Le procédé de l'invention se caractérise en ce qu'il comprend les étapes suivantes :

25

- a) structuration d'un substrat de manière à obtenir sur ce substrat des microcuvettes comprenant dans leur fond une couche d'un matériau capable d'initier et de promouvoir l'adhésion sur celle-ci d'un film d'un copolymère de pyrrole et de pyrrole fonctionnalisé par électropolymérisation,
- b) électropolymérisation collective, de manière à former un film électropolymérisé d'un copolymère de

30

pyrrole et de pyrrole fonctionnalisé sur le fond  
desdites microcuvettes, sur la couche dudit  
matériau, à partir d'une solution de pyrrole et de  
pyrrole fonctionnalisé, en présence de réactifs  
5 chimiques appropriés pour ladite  
électropolymérisation,

c) fixation directe, ou indirecte, d'une sonde  
biologique sur le pyrrole fonctionnalisé, par  
injection d'une solution de la sonde biologique, au  
10 choix dans une ou plusieurs microcuvette(s) en  
présence de réactifs chimiques nécessaires à la  
fixation directe, ou indirecte, de cette sonde  
biologique sur le pyrrole fonctionnalisé.

Selon l'invention, la couche du matériau  
15 capable d'initier et de promouvoir l'adhésion du film  
de copolymère de pyrrole et de pyrrole fonctionnalisé  
par électropolymérisation sur celle-ci peut être une  
couche métallique, l'étape a) précitée pouvant alors  
comprendre une étape de dépôt de ladite couche  
20 métallique sur le substrat, et une étape de dépôt d'une  
couche de résine ou de polymère sur la couche  
métallique et de développement ou de gravure de ladite  
couche de manière à former les microcuvettes dont le  
fond est constitué au moins en partie de la couche  
25 métallique.

Selon l'invention, la couche métallique peut  
être par exemple une couche d'or, une couche de cuivre  
ou d'argent ou d'aluminium.

Selon l'invention, le substrat peut être par  
30 exemple une plaquette de silicium, une plaquette de  
verre ou un support plastique flexible si nécessaire.

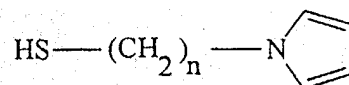
Selon un autre mode de réalisation de la  
présente invention, l'étape a) peut comprendre en outre



une étape de traitement de la couche d'or au fond des microcuvettes en présence d'un pyrrole fonctionnalisé par exemple avec un groupement thiol de manière à former une monocouche de pyrrole sur ladite couche métallique, par exemple sur ladite couche d'or, au fond desdites microcuvettes. Cette monocouche est capable d'initier et de promouvoir l'adhésion d'un film de polypyrrole par électropolymérisation comme l'ont montré R. Simon et coll. (J. Am. Chem. Soc., 1982, 104, 2031). Il s'agit d'une monocouche auto-assemblée (SAM) d'un pyrrole fonctionnalisé pour son accrochage sur le fond des microcuvettes.

Selon l'invention, le pyrrole fonctionnalisé peut être un pyrrole qui présente un groupement chimique permettant sa fixation par liaison covalente avec la couche métallique, et/ou avec la sonde biologique. Dans le cas de sa fixation à la couche métallique, par exemple à la couche d'or, un pyrrole fonctionnalisé avec un groupement thiol ou disulfure peut également être utilisé.

Par exemple, le pyrrole fonctionnalisé avec un groupement thiol peut avoir la formule chimique suivante :



dans laquelle n peut avoir une valeur allant de 1 à 10, par exemple n peut être égal à 6.

Pour une électrode métallique en aluminium, on peut choisir un pyrrole fonctionnalisé avec un groupe -COOH.

Selon un autre mode de réalisation de la présente invention, le substrat peut être une plaquette de silicium et la couche capable d'initier et de promouvoir l'adhésion sur celle-ci d'un film de polypyrrole par électropolymérisation, peut être une  
5 couche de silane présentant un alignement de sites pyrroles. L'étape a) du procédé de la présente invention peut alors comprendre une étape de dépôt d'une couche de résine sur la plaquette de silicium,  
10 ladite plaquette de silicium étant recouverte d'un film de  $\text{SiO}_2$ , et de gravure de ladite couche de résine de manière à former les microcuvettes dont le fond est constitué au moins en partie du film de  $\text{SiO}_2$ ; et une étape de traitement des microcuvettes au moyen d'un  
15 agent de silanisation fonctionnalisé avec un pyrrole de manière à fixer, sur le film de  $\text{SiO}_2$ , dans le fond des microcuvettes la couche de silane présentant un alignement de sites pyrroles.

Selon l'invention, l'agent de silanisation peut  
20 être choisi dans un groupe comprenant le N-(3-(triméthoxy silyl)propyl) pyrrole, ou tout autre pyrrole fonctionnalisé avec un groupement  $-\text{SiCl}_3$  ou  $-\text{Si}(\text{OMe})_3$ . Le film de  $\text{SiO}_2$  peut être un film naturel de  $\text{SiO}_2$  présent sur les plaquettes de silicium.

25

Selon l'invention, quel que soit le mode de réalisation, la résine peut être une résine photosensible, dont le masquage, l'insolation et le développement permettent de former les microcuvettes.

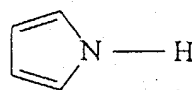
30

Selon l'invention, l'électropolymérisation collective de l'étape b) du procédé peut être par exemple réalisée par trempage du substrat structuré obtenu à l'étape a) précitée dans un bain

électrolytique comprenant une solution de pyrrole, de  
pyrrole fonctionnalisé, et de réactifs chimiques  
appropriés pour l'électropolymérisation, en présence  
d'une contre-électrode à l'électrode de travail qui  
5 trempe dans le bain électrolytique et est indépendante  
du substrat structuré.

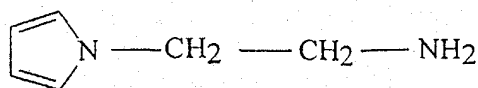
Selon l'invention, dans cette étape b), le  
pyrrole fonctionnalisé peut être un pyrrole comportant  
un groupement choisi dans un ensemble comprenant un  
10 groupement  $\text{NH}_2$ , un groupement thiol, un groupement  
ester succinimide, un groupement triméthoxy silyl, un  
groupement carboxylique, aldéhyde et isothiocyanate.

Selon l'invention, le pyrrole fonctionnalisé  
par l'électropolymérisation peut par exemple être  
15 choisi parmi un des composés suivants :



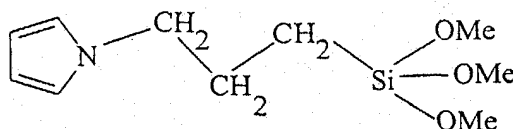
PYRROLE

20

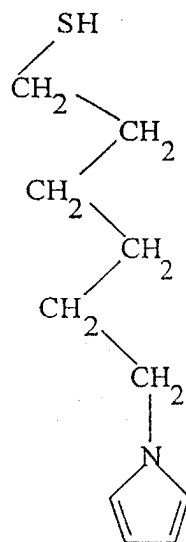


N-ETHYLAMINE PYRROLE

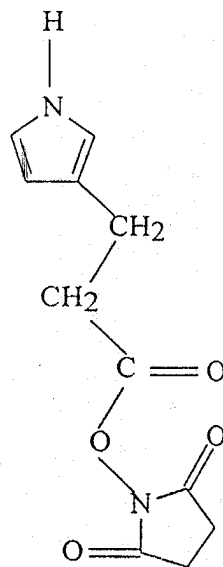
25



N(3-(TRIMETHOXY SILYL) PROPYL) PYRROLE



PYRROLE fonctionnalisé avec un thiol



PYRROLE fonctionnalisé en 3' par un ester succinimydyl.

Selon l'invention, le bain électrolytique peut  
10 être un mélange de pyrrole et de pyrrole fonctionnalisé

en proportions adéquates pour former un film présentant un nombre désiré d'unités de pyrrole fonctionnalisé. Ainsi, le procédé de l'invention permet de choisir le nombre de sondes biologiques par microcuvette, car  
5 selon ce procédé, les sondes biologiques sont fixées, soit directement, soit indirectement, sur ces pyrroles fonctionnalisés.

L'étape c) suivante du procédé de l'invention consiste en une fixation directe ou indirecte d'une  
10 sonde biologique sur le pyrrole fonctionnalisé.

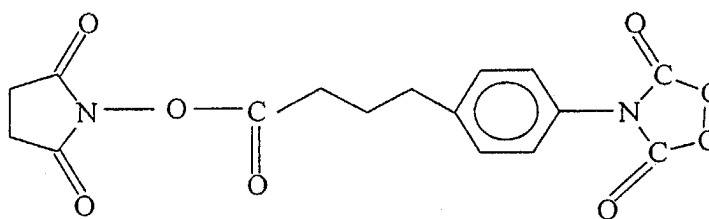
Selon l'invention, lorsque la fixation de la sonde biologique est indirecte, l'étape c) du procédé de l'invention peut comprendre en outre, avant la fixation de la sonde biologique, une fixation  
15 collective d'un agent de réticulation sur le pyrrole fonctionnalisé, en présence de réactifs chimiques appropriés, ledit agent de réticulation comportant une première fonction permettant sa fixation sur le pyrrole fonctionnalisé, et une deuxième fonction permettant la  
20 fixation de la sonde biologique sur ledit agent de réticulation.

Selon l'invention, l'agent de réticulation peut par exemple être un agent de réticulation bifonctionnel.

25 L'agent de réticulation peut par exemple présenter une fonction ester de la N-hydroxysuccinimide et une fonction maléimide.

Selon l'invention, l'agent de réticulation peut par exemple être choisi parmi un des composés  
30 suivants :

10



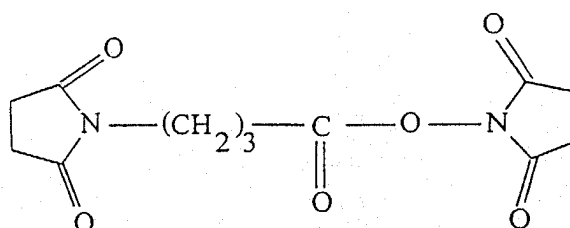
ester de N-hydroxysuccinimide

fonction maléique

SMPB

succinimidyl 4-(p-maléimidophényl)butyrate

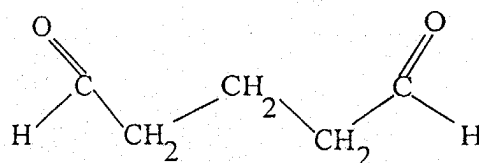
5



GMBS

N-maléimidobutyryloxy succinimide ester,  
un dialdéhyde du type

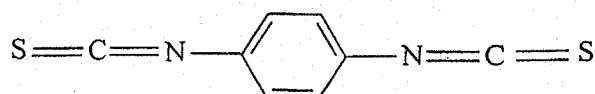
10



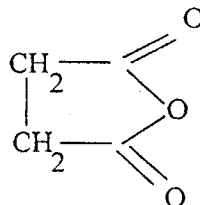
GLUTARALDEHYDE,

un diisothiocyanate du type

15



1,4-PHENYLENE DIISOTHIOCYANATE,



ANHYDRIDE SUCCINIQUE ou acide succinique

5 ou un dérivé de ces composés.

Tous les agents de réticulation bi-fonctionnels précités sont bien adaptés pour les polypyrroles fonctionnalisés avec le groupement  $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{NH}_2$  en position 1 sur l'azote. Mais une électropolymérisation  
10 avec un pyrrole fonctionnalisé avec d'autres groupements sont aussi possibles. Par exemple  $\text{Py}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{NH}_2$ ,  $\text{Py}-\text{SH}$ ,  $\text{Py}$ -succinimidyl ester (en 3),  $\text{Py}$ -hydrazine avec une substitution en 1 sur l'azote ou en 3 sur le cycle pyrrole, permettant d'immobiliser les  
15 oligonucléotides, soit directement, soit par l'intermédiaire d'un agent de réticulation, par exemple bi-fonctionnel.

Les agents de réticulation suivants peuvent donc être utilisés dans le procédé de la présente  
20 invention :

a) un dialdéhyde du type glutaraldéhyde, qui peut réagir sur les fonctions  $\text{NH}_2$  du film de polypyrrole (étape collective) puis sur la fonction  $\text{NH}_2$  d'un oligonucléotide terminé par  
25 exemple par un phosphate portant un groupement aminé, par une étape individuelle dans les microcuvettes ;

b) un diisothiocyanate qui peut également réagir sur la fonction amine du polypyrrole

fonctionnalisé par une extrémité (étape collective) puis sur une fonction amine d'un oligonucléotide terminé par un phosphate avec un groupement espaceur fonctionnalisé avec  
5 NH<sub>2</sub> ;

c) un anhydride succinique qui par ouverture met en jeu deux fonctions acides capables de réagir sur les NH<sub>2</sub> du polypyrrole et d'autre part sur les NH<sub>2</sub> d'un oligonucléotide fonctionnalisé avec NH<sub>2</sub>.  
10

Selon l'invention, la sonde biologique qui va être à l'origine de la spécificité de la biopuce fabriquée, peut être choisie par exemple parmi un oligonucléotide, un ADN, un ARN, un peptide, un  
15 glucide, un lipide, une protéine, un anticorps, un antigène.

Selon l'invention la sonde biologique est de préférence fonctionnalisée pour pouvoir être fixée soit directement, soit indirectement sur le pyrrole fonctionnalisé. Cette fonctionnalisation a pour but de  
20 fixer sur la sonde biologique un groupement chimique capable de former une liaison covalente entre la sonde biologique et le pyrrole fonctionnalisé.

Elle peut être par exemple fonctionnalisée avec  
25 un groupement thiol, avec un groupement NH<sub>2</sub>, aldéhyde, un groupement -COOH ou encore un groupement phsopahte acide.

Par exemple lorsque la sonde biologique est un oligonucléotide, elle peut être fonctionnalisée avec un  
30 groupement thiol (SH). Les oligonucléotides fonctionnalisés avec S-H peuvent être préparés selon une procédure connue, par exemple en fin d'une synthèse automatisée d'oligonucléotides.



Dans un cas où il est plus facile de disposer d'oligonucléotides fonctionnalisés avec  $\text{NH}_2$ , il est possible par exemple de synthétiser un pyrrole fonctionnalisé avec un S-H pour la copolymérisation, d'utiliser par exemple SMPB avec ses deux fonctions spécifiques et d'immobiliser les oligonucléotides fonctionnalisés avec  $\text{NH}_2$  par liaison covalente avec la fonction succinamide de cet agent de réticulation.

Dans le cas d'oligonucléotides terminés en 3' par un nucléotide N-méthyl uridine, une réaction d'oxydation sur cette fonction permet d'obtenir un oligonucléotide fonctionnalisé avec une fonction aldéhyde, capable de réagir directement, c'est-à-dire par exemple sans l'agent bifonctionnel sur le polypyrrole fonctionnalisé avec  $\text{NH}_2$ .

Pour fonctionnaliser un oligonucléotide avec une fonction  $\text{NH}_2$ , l'une des méthodes utilisables selon le procédé de la présente invention peut consister à faire un couplage entre l'oligonucléotide et le N-trifluoroacétyl-6 amino hexyl-2 cyanoéthyl NN'-diisopropyl phosphoramidite disponible dans le commerce.

Par ailleurs, un oligonucléotide fonctionnalisé avec  $\text{NH}_2$  peut par exemple être converti en oligonucléotide terminé par un thiol par une réaction avec le dithiobis (succinimidylpropionate).

Les oligonucléotides sondes fonctionnalisés peuvent par exemple être prélevés par micropipetage dans des micropuits et injectés dans les microcuvettes par exemple par l'intermédiaire d'un microrobot dispenseur ou par impression par jets. Ces appareils sont bien connus de l'homme du métier.

Le procédé de la présente invention permet avantageusement de choisir le nombre de sondes par site actif, c'est-à-dire par microcuvette en jouant sur la proportion de pyrrole fonctionnalisé par rapport au pyrrole.

La densité de sondes souhaitée peut être contrôlée par exemple par fixation d'oligonucléotides marquées en extrémité de chaînes par une biotine et en utilisant la reconnaissance par streptavidine-Cy3 par une analyse de surface de la puce par les méthodes classiques de détection par fluorescence.

Un autre avantage du procédé de l'invention réside dans le fait que les deux opérations collectives, électropolymérisation et éventuellement fixation de l'agent de réticulation, peuvent se faire par lots sur un grand nombre de plaquettes en parallèle.

Les plaquettes ayant subi les étapes a) et b) du procédé de l'invention sont aussi appelées "ébauches de biopuces". Elles sont prêtes à être soumises à l'étape de fixation directe ou indirecte d'une sonde biologique, par exemple d'un oligonucléotide conforme à la présente invention.

Ainsi, le procédé de l'invention permet par exemple de fabriquer une puce oligonucléotidique comprenant dans cet ordre :

- soit un substrat de silicium recouvert de silice, et d'une couche de silane fonctionnalisé avec des pyrroles,
- soit une couche d'or ou une couche silane présentant des sites pyrroles,

- soit une couche d'or avec ou sans une couche de promotion et d'adhérence de l'électropolymérisation (basée sur un pyrrole fonctionnalisé avec un thiol -SH),
- 5 - soit une couche d'aluminium avec un pyrrole fonctionnalisé avec un -COOH,
- et une couche de résine dans laquelle des microcuvettes ont été réalisées de telle sorte que le fond desdites microcuvettes est constitué au moins en partie de la couche d'or ou de la couche de silane présentant des sites pyrroles,
- 10 - et une couche d'un copolymère de pyrrole et de pyrrole fonctionnalisé, fixée sur la couche d'or ou la couche de silane présentant des sites pyrroles
- 15 constituant le fond desdits microcuvettes, le pyrrole fonctionnalisé étant lié ou non à un agent de réticulation bifonctionnel,
- et un oligonucléotide fixé directement sur le pyrrole fonctionnalisé, ou indirectement sur le
- 20 pyrrole fonctionnalisé par l'intermédiaire de l'agent de réticulation lié au pyrrole.

D'autres avantages et caractéristiques de la présente invention apparaîtront encore à la lecture de la description qui suit, donnée bien entendu à titre illustratif et non limitatif, en référence aux dessins en annexe.

#### Brève description des figures

- 30 - La figure 1 est un schéma d'une vue en coupe d'un substrat structuré selon un premier mode de réalisation des étapes a) et b) du procédé de la présente invention.

- La figure 2 est un schéma d'une vue en coupe d'un substrat structuré selon le mode de réalisation représenté sur la figure 1, et comprenant en outre un agent de réticulation pour une fixation indirecte d'une  
5 molécule biologique.

- La figure 3 est un schéma d'une vue en coupe d'un substrat structuré représenté sur la figure 2, illustrant la fixation indirecte d'un oligonucléotide sur l'agent de réticulation.

10 - La figure 4 est un schéma d'une vue en coupe d'un substrat structuré selon un second mode de réalisation du procédé de la présente invention.

- La figure 5 est un schéma d'une vue en coupe d'un substrat structuré selon un troisième mode de réalisation des étapes a) et b) du procédé de la  
15 présente invention.

#### EXEMPLES

Exemple 1 : Fabrication d'une biopuce constituée  
20 notamment d'oligonucléotides greffés sur un polymère conducteur selon un premier mode de réalisation de la présente invention.

Selon ce premier mode de réalisation, relatif notamment à l'étape a) du procédé de l'invention, une  
25 couche d'or est déposée sur une plaquette de silicium de manière à former une électrode de travail pour l'électropolymérisation d'un copolymère de pyrrole et de pyrrole fonctionnalisé. Cette couche d'or est déposée par une technique classique d'évaporation sous  
30 vide ou pulvérisation cathodique. Elle a une épaisseur d'environ 1000 à 5000 Å et constitue l'électrode de travail collective.

Une résine photosensible est déposée sur l'électrode en or et une étape de photolithographie permet de pratiquer des ouvertures dans la résine de manière à former des microcuvettes comportant l'électrode de travail dans leur fond, ces microcuvettes peuvent être adressées simultanément.

La résine utilisée est de préférence :

- a) une résine photosensible de type positif (Novolaque + diézonaphtoquinone à développement en milieu alcalin) ;
- b) une résine photosensible négative de type Polyimide (OLIN) à développement dans un solvant organique ;
- c) soit un polymère gravé par gravure sèche ou humide.

Les microcuvettes formées ont une dimension de 100x100x30 µm.

La résine est déposée sur l'électrode en or par une technique classique de centrifugation à la tournette ("spinning"). Un substrat structuré selon l'étape a), du procédé de la présente invention est ainsi obtenu.

L'étape b) d'électropolymérisation collective est réalisée en utilisant une solution de pyrrole et de pyrrole fonctionnalisé.

Dans cet exemple, le pyrrole fonctionnalisé est le N-éthylaminepyrrole, et la solution utilisée pour l'électropolymérisation est une solution aqueuse/éthanol ou acétonitrile comprenant 0,1 mole de pyrrole, et un rapport molaire pyrrole fonctionnalisé/pyrrole de 5% à 0,5% en poids de pyrrole fonctionnalisé. Cette solution est appelée ci-après bain électrolytique.

L'obtention du monomère de pyrrole fonctionnalisé avec une fonction  $\text{NH}_2$  est aisée et est décrite par exemple dans I. Jirkowsky, R. Baudy, Synthesis 1981, p. 481.

5 L'électropolymérisation est réalisée par trempage dans le bain électrolytique du substrat structuré obtenu précédemment, avec des réactifs appropriés pour l'électrochimie. Ces réactifs sont par exemple des sels électrolytiques ( $\text{Li}^+\text{ClO}_4^-$ , sels  
10 d'ammonium quaternaires, Li-toxylate, ou du polystyrène sulfonate de lithium, de potassium ou de sodium).

Les solvants pour l'électropolymérisation sont, par exemple, le  $\text{CA}_3\text{CN}$ , l'eau, l'éthanol et les mélanges eau-éthanol. Le pyrrole contenu dans le bain présente  
15 une concentration de l'ordre de  $10^{-1}$  à  $10^{-3}$  M/l.

Une contre-électrode en platine et une électrode de référence au calomel trempent dans le bain électrolytique et sont indépendantes de la plaquette de silicium, seule l'électrode de travail est intégrée à  
20 la structure de la plaquette.

Un film de copolymère de pyrrole et de pyrrole fonctionnalisé est ainsi formé et déposé uniquement sur le fond des microcuvettes par électrodéposition.

La figure 1 est un schéma d'une vue en coupe du  
25 substrat obtenu selon ce premier mode de réalisation du procédé de la présente invention. Sur cette figure, la référence 1 se rapporte au substrat structuré formé dans cet exemple, constitué d'une plaquette de silicium 3, d'une couche d'or 5, et d'une couche de résine  
30 photosensible 7. La référence 9 se rapporte à la liaison de la couche d'or avec un générateur de courant électrique pour l'électropolymérisation, la référence 10 à une microcuvette, et les références 11 et 13 se

rapportent au copolymère de pyrrole (référence 11) et de N-éthylamine pyrrole (référence 13) formé par électrodéposition sur la couche d'or 5 au fond de la microcuvette 10.

5 Dans cet exemple, l'étape c) de fixation de la molécule biologique est une étape de fixation indirecte. Elle comprend la fixation d'un agent de réticulation sur la fonction  $\text{NH}_2$  du N-éthylamine pyrrole électrodéposé sur le fond des microcuvettes.

10 L'agent de réticulation utilisé dans cet exemple est le succinimidyl 4-(p-maléimidophényl) butyrate) (SMPB) décrit précédemment.

Cette fixation est réalisée en formant une liaison covalence entre la fonction  $\text{NH}_2$  du pyrrole  
15 fonctionnalisé et la fonction succinate du SMPB.

Elle est réalisée par trempage du substrat précédemment formé dans une solution  $10^{-3}\text{M}$  de SMPB dans un solvant (diméthylformamimide).

20 Le polypyrrole formé est insoluble dans cette solution et dans la majorité des solvants courants.

La figure 2 est un schéma d'une vue en coupe du substrat structuré ainsi obtenu. Sur ce schéma, la référence 1 se rapporte au substrat structuré représenté sur la figure 1, et la référence 15 se  
25 rapporte à l'agent de réticulation SMPB. Cette figure 2 montre aussi la réaction entre le groupe succinimide de l'agent de réticulation et la fonction amine du pyrrole.

30 On a donc réalisé dans cet exemple des microcuvettes recouvertes d'un polypyrrole présentant une fonctionnalisation de surface, grâce au SMBP, de groupements réactifs de type maléimide.

Ces groupements maléimide de SMBP permettent la fixation de la sonde biologique sur le film de polypyrrole précédemment électrodéposé.

La sonde biologique utilisée dans cet exemple  
5 est un mélange d'oligonucléotides fonctionnalisés avec un groupement thiol SH.

Les oligonucléotides ont été préparés par une synthèse automatisée classique, et fonctionnalisés avec un groupement thiol. Les oligonucléotides  
10 fonctionnalisés sont prélevés par micropipetage dans des micropuits et injectés dans les microcuvettes par l'intermédiaire d'un microrobot dispenseur.

La figure 3 est un schéma d'une vue en coupe du substrat structuré représenté sur la figure 2,  
15 illustrant la fixation de l'oligonucléotide sur l'agent de réticulation. Sur cette figure, la référence 1 se rapporte au substrat structuré formé dans cet exemple, les références 11 et 13, comme sur les figures 1 et 2, se rapportent au copolymère de pyrrole et de  
20 N-éthylamine pyrrole, la référence 15 à l'agent de réticulation SMBP représenté sur la figure 2 et la référence 17 se rapporte à un oligonucléotide. Cette figure 3 montre aussi la réaction entre la fonction maléimide de l'agent de réticulation et  
25 l'oligonucléotide -SH.

La densité de sonde a été analysée par fixation d'oligonucléotides marqués par une biotine (référence 19 sur la figure 3) et en utilisant une reconnaissance par la streptavidine Cy3 (référence 21 sur la figure  
30 3).

L'analyse a été réalisée par une méthode classique de détection par fluorescence, appliquée au couple biotine-streptavidine.



Exemple 2 : Fabrication d'une biopuce constituée notamment de sondes d'oligonucléotides greffées sur un polymère conducteur selon un second mode de réalisation  
5 du procédé de la présente invention.

Selon ce deuxième mode de réalisation, relatif notamment à l'étape a) du procédé de l'invention, une résine photosensible négative est déposée sur une plaquette de silicium recouverte d'un film naturel de  
10  $\text{SiO}_2$ .

Comme dans l'exemple 1, des microcuvettes sont alors formées par photolithographie de telle manière que le fond des microcuvettes, appelées aussi ci-après sites, soit constitué par la couche d'oxyde de  
15 silicium.

On procède ensuite à une fonctionnalisation des sites par silanisation : cette fonctionnalisation est une étape collective du procédé de l'invention, elle est réalisée par trempage de la plaquette de silicium  
20 comportant les microcuvettes formées précédemment dans une solution d'un agent de silanisation fonctionnalisé avec un pyrrole dans un solvant approprié. L'agent de silanisation est le N-(3-(triméthoxysilyl)propyl)pyrrole, et le solvant est un mélange éthanol/eau  
25 (95/5) ou du toluène.

On obtient sur le fond des microcuvettes, ou sites, une monocouche de silane présentant un alignement régulier de sites pyrrole.

Cette monocouche est capable d'initier et de promouvoir l'adhésion d'un film de polypyrrole par électropolymérisation : elle forme une électrode de travail pour l'électropolymérisation collective du  
30 procédé de la présente invention.

L'électropolymérisation sur une telle monocouche est par exemple décrite dans l'article de R. Simon et Coll; J. Am. Chem. Soc. 1982, 104, 2031.

5 L'étape suivante est l'étape b) du procédé de l'invention, d'électropolymérisation d'un copolymère de pyrrole et de N-éthylamine pyrrole noté ci-après Py et Py-R-F, où R et F sont respectivement un groupement espaceur et une fonction chimique réactive.

10 La plaquette de silicium fonctionnalisée par le silane pyrrole constitue en fait l'anode d'une cellule d'électrolyse. Elle est plongée dans un bain électrolytique approprié, contenant les deux polymères, une contre-électrode et une électrode de référence.

15 Le bain électrolytique comprend outre Py et Py-R-F des sels électrolytiques de  $\text{Li}^+$  dans un solvant eau/éthanol ou acétonitrile.

20 La contre-électrode est une électrode de platine. Au cours de l'électropolymérisation, les noyaux pyrrole et pyrrole substitué viennent s'insérer et se lier aux motifs pyrrole de la monocouche de silane.

La figure 4 en annexe illustre le produit ainsi obtenu, elle montre aussi la formation de liaisons covalentes entre les différents cycles pyrrole.

25 Sur cette figure, la référence 32 se rapporte à la plaquette de silicium, la référence 34 à la couche de résine photosensible, la référence 35 à une microcuvette, la référence 36 à la monocouche de silane, et la référence 38 à la couche de copolymère de pyrrole et de pyrrole fonctionnalisé.

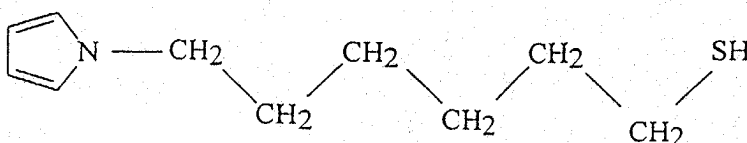
30 La fabrication de la biopuce est achevée comme dans l'exemple 1 :

- réactions avec l'agent de réticulation bifonctionnel : étape collective,
- immobilisation des sondes d'oligonucléotides fonctionnalisés avec un groupement thiol (-S-H) par adressage mécanique avec un robot par impression à jets de liquide (tête piézoélectrique) de type GESIM ou avec un robot de type BROWN.

Exemple 3 : Fabrication d'une biopuce constituée notamment de sondes d'oligonucléotides greffés sur un polymère conducteur selon un troisième mode de réalisation du procédé de la présente invention.

Dans cet exemple de réalisation du procédé de la présente invention, les microcuvettes ont été réalisées par photolithographie d'une résine déposée sur une électrode d'or à la surface d'une plaquette de silice comme dans l'exemple 1 précédent.

Il a ensuite été procédé à une thiolisation de la couche d'or au fond des microcuvettes par un pyrrole fonctionnalisé avec un groupement -SH de formule suivante :



La réaction a été réalisée par trempage de la plaquette précitée dans une solution contenant le pyrrole fonctionnalisé avec un thiol dans un solvant comme le diméthylformamide (DMF) par exemple.

Le thiol s'est accroché sur l'or au fond des microcuvettes pour former une monocouche de pyrrole.

L'ensemble couche d'or et pyrrole fixé sur celle-ci formant une électrode de travail pour l'électropolymérisation collective de l'étape b) du procédé de l'invention. En fait, l'échantillon sert d'anode pour l'amorçage collectif de l'électropolymérisation.

Les étapes b) et c) du procédé de l'invention ont alors été réalisées comme dans les exemples 1 et 2 précédents.

La figure 5 en annexe est un schéma illustrant le produit obtenu dans cet exemple. Il s'agit d'une vue en coupe d'un substrat structuré 40 comprenant une plaquette de silicium 42, une couche d'or 44, une couche de résine 46 photosensible dans laquelle sont formées des microcuvettes 48, une monocouche de pyrrole 50 accrochée sur l'or au fond des microcuvettes, et un film 52 de copolymère de pyrrole (Py) et de pyrrole

fonctionnalisé ( $\text{—Py—}$ ). Sur cette figure, les flèches courbes indiquent l'électrodéposition du film précité sur le pyrrole 50 fonctionnalisé accroché par des groupements thiol sur l'or au fond des microcuvettes.

#### Exemple 4 : Compléments

Une autre approche consiste à utiliser un dépôt de polypyrrole fonctionnalisé, comme :

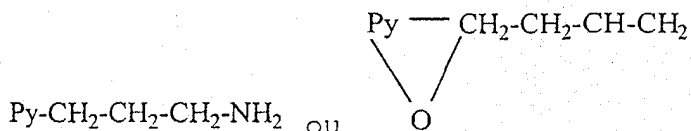
- soit un support d'immobilisation d'oligonucléotides,
- soit un support pour le démarrage d'une synthèse in situ de l'oligonucléotide.

Cette technique permet de remplacer avantageusement une étape de silanisation dans laquelle une monocouche est plus difficile à réaliser, par un film de polymère comportant une épaisseur et un nombre  
 5 de sites fonctionnels bien contrôlés.

Pour ce faire, on réalise par électropolymérisation des films d'un copolymère comportant une proportion donnée de pyrrole fonctionnalisé par rapport au pyrrole. Ces films de  
 10 polypyrrole, déposés sur une électrode d'or, au lieu de silicium ou verre, montrent une fluorescence parasite d'intensité bien inférieure à celle observée avec les autres substrats.

La fonctionnalisation peut se faire :

- 15 1. sur l'azote du pyrrole par une fonction  $\text{NH}_2$  ou époxy, par exemple :



Ces fonctions peuvent servir à la fois à  
 20 l'immobilisation de sondes et à la synthèse in situ ;

2. en position 1, 2 ou 3 du pyrrole par une fonction oxyamine ( $\text{R}-\text{ONH}_2$ ) ou carbonyle ( $\text{R}, \text{R}'\text{C}=\text{O}$  avec de préférence  $\text{R}'=\text{CH}_3$ ). Dans ce cas,  
 25 ces fonctions servent uniquement à l'immobilisation de sondes. L'oligonucléotide présente de préférence soit une fonction carbonyle, soit une fonction oxyamine selon le substrat. La réaction de couplage oxyamine-carbonyle présente l'avantage d'être très  
 30 rapide et conduit à des temps d'immobilisation

inférieurs à 10 minutes, contrairement à quelques heures comme dans le cas précédent ;

3. sur l'azote du pyrrole par un nucléotide comportant préférentiellement une base T. Cette fonctionnalisation sert à l'immobilisation de sondes comportant un groupement psoralène en 5'. Ce groupement réagit sous l'action de la lumière à 365 nm pour effectuer une cycloaddition entre la double liaison du psoralène et la double liaison 5,6 de la Thymine ; le temps de réaction est relativement rapide : environ 15 min.

5

10

## REVENDICATIONS

1. Procédé de fabrication d'une ébauche de biopuce, caractérisé en ce qu'il comprend les étapes suivantes :

- 5 a) structuration d'un substrat de manière à obtenir sur ce substrat des microcuvettes comprenant dans leur fond une couche d'un matériau capable d'initier et de promouvoir l'adhésion sur celle-ci d'un film d'un copolymère de pyrrole et de pyrrole fonctionnalisé  
10 par électropolymérisation,  
b) électropolymérisation collective, de manière à former un film électropolymérisé d'un copolymère de pyrrole et de pyrrole fonctionnalisé sur le fond desdites microcuvettes, sur la couche dudit  
15 matériau, à partir d'une solution de pyrrole et de pyrrole fonctionnalisé, en présence de réactifs chimiques appropriés pour ladite électropolymérisation.

- 20 2. Procédé de fabrication d'une biopuce comprenant la fabrication d'une ébauche de biopuce selon les étapes a) et b) de la revendication 1 et comprenant en outre une étape c) de fixation directe, ou indirecte, d'une sonde biologique sur le pyrrole  
25 fonctionnalisé, par injection d'une solution de la sonde biologique, au choix dans une ou plusieurs microcuvette(s) en présence de réactifs chimiques nécessaires à la fixation directe, ou indirecte, de cette sonde biologique sur le pyrrole fonctionnalisé.

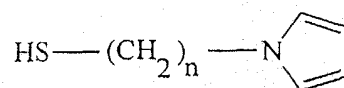
- 30 3. Procédé selon la revendication 1, dans lequel la couche du matériau capable d'initier et de promouvoir l'adhésion du film de polypyrrole par

électropolymérisation étant une couche métallique, l'étape a) comprend une étape de dépôt de ladite couche métallique sur le substrat, et une étape de dépôt d'une couche de résine sur la couche métallique et de gravure  
5 de ladite couche de résine de manière à former les microcuvettes dont le fond est constitué au moins en partie de la couche métallique.

4. Procédé selon la revendication 3, dans  
10 lequel la couche métallique est une couche d'or.

5. Procédé selon la revendication 3 ou 4, dans lequel l'étape a) comprend en outre, une étape de traitement chimique de la couche d'or au fond des  
15 microcuvettes en présence d'un pyrrole fonctionnalisé avec un groupement thiol de manière à former une monocouche de pyrrole sur ladite couche d'or, au fond desdites microcuvettes.

20 6. Procédé selon la revendication 5, dans lequel le pyrrole fonctionnalisé avec un groupement thiol a la formule chimique suivante :



dans laquelle n a une valeur allant de 2 à 10.

25

7. Procédé selon l'une quelconque des revendications 1 à 6, dans lequel le substrat est une plaquette de silicium.

30

8. Procédé selon la revendication 1, dans lequel le substrat est une plaquette de silicium et



dans lequel la couche capable d'initier et de promouvoir l'adhésion sur celle-ci du film de polypyrrole par électropolymérisation étant une couche de silane présentant un alignement de sites pyrrole, l'étape a) comprend une étape de dépôt d'une couche de résine sur la plaquette de silicium, ladite plaquette de silicium étant recouverte d'un film de  $\text{SiO}_2$ , et de gravure de ladite couche de résine de manière à former les microcuvettes dont le fond est constitué au moins en partie du film de  $\text{SiO}_2$ ; et une étape de traitement des microcuvettes au moyen d'un agent de silanisation fonctionnalisé avec un pyrrole de manière à fixer sur le film de  $\text{SiO}_2$ , dans le fond des microcuvettes, la couche de silane présentant un alignement de sites pyrroles.

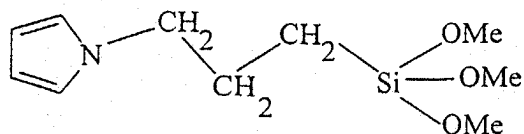
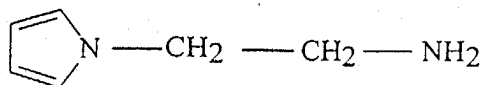
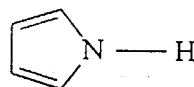
9. Procédé selon la revendication 8, dans lequel l'agent de silanisation est choisi dans un groupe comprenant le N-(3-(triméthoxy silyl)propyl)pyrrole, ou tout autre pyrrole fonctionnalisé avec un groupement  $-\text{SiCl}_3$  ou  $-\text{Si}(\text{OMe})_3$ .

10. Procédé selon l'une quelconque des revendications 1 à 9, dans lequel l'électropolymérisation collective est réalisée par trempage du substrat structuré obtenu à l'étape a) dans un bain électrolytique comprenant une solution de pyrrole, de pyrrole fonctionnalisé, et de réactifs chimiques appropriés pour l'électropolymérisation, en présence d'une contre-électrode qui trempe dans le bain électrolytique et est indépendante du substrat structuré, la couche de matériau capable d'initier et de promouvoir l'adhésion sur celle-ci du film de

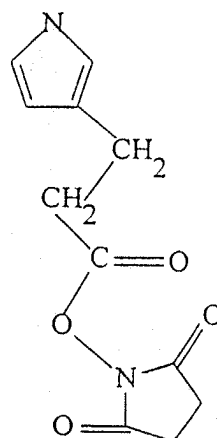
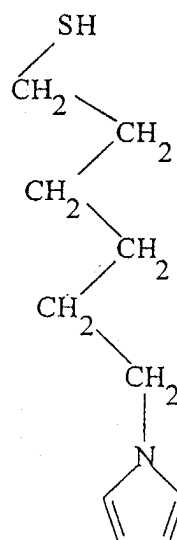
copolymère de pyrrole et de pyrrole fonctionnalisé formant une électrode de travail.

11. Procédé selon l'une quelconque des  
5 revendications 1 à 10, dans lequel le pyrrole fonctionnalisé est un pyrrole comportant un groupement choisi dans un ensemble comprenant un groupement  $\text{NH}_2$ , un groupement thiol, un groupement ester de la N-hydroxysuccinimide, un groupement triméthoxy silyl, un  
10 groupement carboxylique, aldéhyde, isothiocyanate.

12. Procédé selon l'une quelconque des  
revendications 1 à 10 dans lequel le pyrrole fonctionnalisé est choisi parmi un des composés  
15 suivants :



31



5

13. Procédé selon la revendication 2 dans lequel la fixation de la sonde biologique étant indirecte, ledit procédé comprend en outre, dans  
10 l'étape c), avant la fixation de la sonde biologique, une fixation collective d'un agent de réticulation sur le pyrrole fonctionnalisé, en présence de réactifs chimiques appropriés, ledit agent de réticulation

comportant une première fonction permettant sa fixation sur le pyrrole fonctionnalisé, et une deuxième fonction permettant la fixation de la sonde biologique sur ledit agent de réticulation.

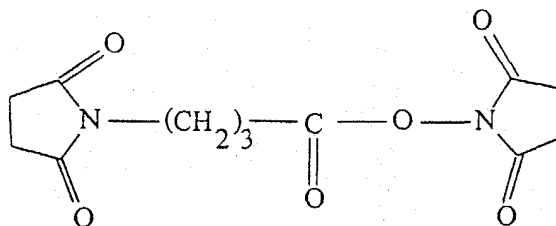
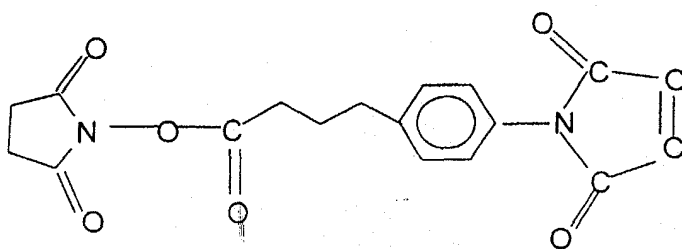
5

14. Procédé selon la revendication 13, dans lequel l'agent de réticulation est choisi dans un ensemble comprenant un dialdéhyde, un diisothiocyanate, un diacide, un anhydride succinique, ou un dérivé de ces composés.

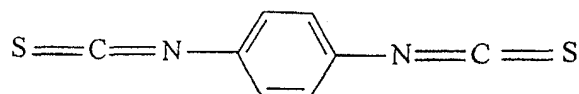
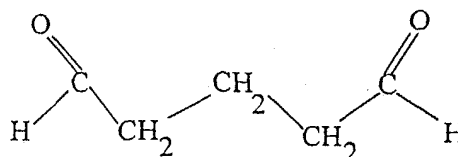
10

15. Procédé selon la revendication 13, dans lequel l'agent de réticulation est choisi parmi un des composés suivants :

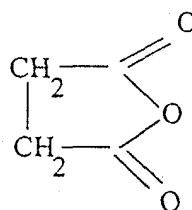
15



20



5



10            16. Procédé selon la revendication 2, dans lequel la sonde biologique est choisie parmi un oligonucléotide, un ADN, un ARN, un peptide, un glucide, un lipide, une protéine, un anticorps, un antigène.

15            17. Procédé selon la revendication 2, dans lequel la sonde biologique est un oligonucléotide fonctionnalisé pour être fixé soit directement, soit indirectement sur un pyrrole fonctionnalisé.

20            18. Procédé selon la revendication 17, dans lequel l'oligonucléotide est fonctionnalisé avec un groupement thiol.

19. Ebauche de biopuce comprenant dans cet ordre :

- un substrat,
- une couche d'un matériau capable d'initier et de promouvoir l'adhésion sur celle-ci d'un film d'un copolymère de pyrrole et de pyrrole fonctionnalisé par électropolymérisation,
- une couche de résine recouvrant ladite couche de matériau capable d'initier et de promouvoir l'adhésion sur celle-ci d'un film d'un copolymère du pyrrole et de pyrrole fonctionnalisé, dans laquelle des microcuvettes ont été réalisées de telle sorte que le fond desdites microcuvettes est constitué au moins en partie de la couche dudit matériau,
- une couche d'un copolymère de pyrrole et de pyrrole fonctionnalisé, fixée sur ledit matériau constituant le fond desdits microcuvettes.

20. Biopuce comprenant dans cet ordre :

- un substrat de silice,
- une couche d'or ou une couche silane présentant des sites pyrroles,
- une couche de résine recouvrant la couche d'or ou la couche de silane présentant des sites pyrroles, dans laquelle des microcuvettes ont été réalisées de telle sorte que le fond desdites microcuvettes est constitué au moins en partie de ladite couche d'or ou de ladite couche de silane présentant des sites pyrroles,
- une couche d'un copolymère de pyrrole et de pyrrole fonctionnalisé, fixée sur la couche d'or ou la couche de silane présentant des sites pyrroles constituant le fond desdits microcuvettes, le

pyrrole fonctionnalisé étant lié ou non à un agent de réticulation bifonctionnel, et

- un oligonucléotide fixé directement sur le pyrrole fonctionnalisé, ou indirectement sur le pyrrole fonctionnalisé par l'intermédiaire de l'agent de réticulation lié audit pyrrole.

# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No.

PCT/FR 99/03141

**A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER**  
 IPC 7 C12Q1/68 G01N33/543

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

**B. FIELDS SEARCHED**

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)  
 IPC 7 C12Q G01N

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

**C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT**

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	US 5 837 859 A (ROGET ANDRE ET AL) 17 November 1998 (1998-11-17)	1-6, 10-17, 19, 20
Y	the whole document	8
X	LIVACHE T ET AL.: "Preparation of a DNA matrix via an electrochemically directed copolymerization of pyrrole and oligonucleotides bearing a pyrrole group" NUCLEIC ACIDS RESEARCH, vol. 22, no. 15, 1994, pages 2915-2921, XP002114812 the whole document	1, 5, 6, 10-14, 16, 17, 19, 20

☒ Further documents are listed in the continuation of box C.

☒ Patent family members are listed in annex.

\* Special categories of cited documents:

- "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
- "E" earlier document but published on or after the international filing date
- "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
- "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
- "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

- "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
- "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
- "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.
- "&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

15 March 2000

Date of mailing of the international search report

22/03/2000

Name and mailing address of the ISA

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2  
 NL - 2280 HV Rijswijk  
 Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,  
 Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Knehr, M



## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

 International Application No  
 PCT/FR 99/03141

## C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	LIVACHE T ET AL.: "Electroconducting polymers for the construction of DNA or peptide arrays on silicon chips" BIOSENSORS & BIOELECTRONICS, vol. 13, 1998, pages 629-634, XP000869823 the whole document ---	1-3, 19, 20
X	LIVACHE T ET AL.: "Polypyrrole DNA chip on a silicon device: Example of hepatitis C virus typing" ANALYTICAL BIOCHEMISTRY, vol. 255, 1998, pages 188-194, XP002114813 abstract Y page 188, column 1, paragraph 1 -page 190, column 1, paragraph 1; figures 1,2 page 191, column 1, paragraph 1 -page 192, column 2, paragraph 3 ---	1-3, 19, 20  6, 8, 10
Y	EP 0 229 993 A (POLAROID CORP) 29 July 1987 (1987-07-29)  the whole document ---	1-4, 6-8, 10-12, 19, 20
Y	US 5 653 939 A (KOSICKI BERNARD B ET AL) 5 August 1997 (1997-08-05) abstract column 11, line 11 - line 65; claims 1-9; figures 15, 16, 21, 22 ---	1-4
Y	EP 0 588 721 A (COMMISSARIAT ENERGIE ATOMIQUE) 23 March 1994 (1994-03-23) the whole document ---	1-3, 7
Y	US 5 810 989 A (KRIHAK MICHAEL ET AL) 22 September 1998 (1998-09-22) the whole document ---	1-3, 10
Y	SIMON R A ET AL.: "Synthesis and characterization of a new surface derivatizing reagent to promote the adhesion of polypyrrole films to n-type silicon photoanodes: N-(3-(Trimethoxysilyl)propyl)pyrrole" JOURNAL OF THE AMERICAN CHEMICAL SOCIETY, vol. 104, 1982, pages 2031-2034, XP002114814 cited in the application the whole document ---	8, 9, 11, 12

-/--

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No  
PCT/FR 99/03141

## C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	GUISEPPI-ELIE A AND WILSON A M: "Specific immobilization of electropolymerized polypyrrole thin films onto interdigitated microsensor electrode arrays" LANGMUIR, vol. 11, 1995, pages 1768-1776, XP002114815 abstract	8,9,11, 19,20
A	NISHIZAWA M ET AL.: "Electrochemical preparation of ultrathin polypyrrole film at microarray electrodes" JOURNAL OF PHYSICAL CHEMISTRY, vol. 95, 1991, pages 9042-9044, XP002114816 the whole document	
A	EP 0 659 794 A (LORRAINE LAMINAGE) 28 June 1995 (1995-06-28) the whole document	
A	EP 0 038 244 A (COMMISSARIAT ENERGIE ATOMIQUE) 21 October 1981 (1981-10-21) the whole document	
P,X	BIDAN G ET AL.: "Conducting polymers as a link between biomolecules and microelectronics" SYNTHETIC METALS, vol. 102, 1999, pages 1363-1365, XP002114817 the whole document	1,2,19, 20

# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

information on patent family members

International Application No  
PCT/FR 99/03141

Patent document cited in search report		Publication date	Patent family member(s)	Publication date
US 5837859	A	17-11-1998	FR 2703359 A	07-10-1994
			AT 159028 T	15-10-1997
			DE 69406119 D	13-11-1997
			DE 69406119 T	26-03-1998
			DK 691978 T	25-05-1998
			EP 0691978 A	17-01-1996
			ES 2110228 T	01-02-1998
			WO 9422889 A	13-10-1994
			GR 3025738 T	31-03-1998
			JP 8508311 T	03-09-1996
EP 0229993	A	29-07-1987	CA 1311715 A	22-12-1992
			JP 62181328 A	08-08-1987
			US 4724053 A	09-02-1988
US 5653939	A	05-08-1997	US 5846708 A	08-12-1998
			EP 0638173 A	15-02-1995
			JP 7508831 T	28-09-1995
			WO 9322678 A	11-11-1993
			AT 176324 T	15-02-1999
			DE 69228291 D	11-03-1999
			DE 69228291 T	02-06-1999
			EP 0543550 A	26-05-1993
			JP 5322817 A	07-12-1993
			US 5532128 A	02-07-1996
			US 5670322 A	23-09-1997
			US 5891630 A	06-04-1998
EP 0588721	A	23-03-1994	FR 2696043 A	25-03-1994
			JP 6188109 A	08-07-1994
US 5810989	A	22-09-1998	NONE	
EP 0659794	A	28-06-1995	FR 2714077 A	23-06-1995
			AT 177444 T	15-03-1999
			DE 69416971 D	15-04-1999
			DE 69416971 T	07-10-1999
			ES 2131654 T	01-08-1999
			JP 7331491 A	19-12-1995
			US 5522981 A	04-06-1996
EP 0038244	A	21-10-1981	FR 2480314 A	16-10-1981

# RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Demande internationale n°  
PCT/FR 99/03141

A. CLASSEMENT DE L'OBJET DE LA DEMANDE IPC 7 C12Q1/68 G01N33/543 Selon la classification internationale des brevets (CIB) ou à la fois selon la classification nationale et la CIB		
B. DOMAINES SUR LESQUELS LA RECHERCHE A PORTE Documentation minimale consultée (système de classification suivi des symboles de classement) IPC 7 C12Q G01N Documentation consultée autre que la documentation minimale dans la mesure où ces documents relèvent des domaines sur lesquels a porté la recherche Base de données électronique consultée au cours de la recherche internationale (nom de la base de données, et si cela est réalisable, termes de recherche utilisés)		
C. DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS		
Catégorie*	Documents cités avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents	n° des revendications visées
X	US 5 837 859 A (ROGET ANDRE ET AL) 17 Novembre 1998 (17.11.98)	1-6, 10-17, 19, 20
Y	Le document en entier.	8
X	LIVACHE T ET AL.: "Preparation of a DNA matrix via an electrochemically directed copolymerization of pyrrole and oligonucleotides bearing a pyrrole group" NUCLEIC ACIDS RESEARCH, vol. 22, no. 15, 1994, pages 2915-2921, XP002114812 le document en entier.	1, 5, 6, 10-14, 16, 17, 19, 20
<input checked="" type="checkbox"/> Voir la suite du cadre C pour la fin de la liste des documents. <input checked="" type="checkbox"/> Les documents de familles de brevets sont indiqués en annexe.		
* Catégories spéciales de documents cités : "A" document définissant l'état général de la technique, n'étant pas considéré comme particulièrement pertinent "E" document antérieur, mais publié à la date de dépôt international ou après cette date "L" document pouvant jeter un doute sur une revendication de priorité ou cité pour déterminer la date de publication d'une autre citation ou pour une raison spéciale (telle qu'indiquée) "O" document se référant à une divulgation orale, à un usage, à une exposition ou tous autres moyens "P" document publié avant la date de dépôt international, mais après la date de priorité revendiquée "T" document ultérieur publié après la date de dépôt international ou la date de priorité et n'appartenant pas à l'état de la technique pertinent, mais cité pour permettre de comprendre le principe ou la théorie constituant la base de l'invention "X" document particulièrement pertinent; l'invention revendiquée ne peut être considérée comme nouvelle ou comme impliquant une activité inventive par rapport au document considéré isolément "Y" document particulièrement pertinent; l'invention revendiquée ne peut être considérée comme impliquant une activité inventive lorsque le document est associé à un ou plusieurs autres documents de même nature, cette combinaison étant évidente pour une personne du métier "&" document qui fait partie de la même famille de brevets		
Date à laquelle la recherche a été effectivement achevée 15 Mars 2000 (15.03.00)		Date d'expédition du rapport de recherche 22 Mars 2000 (22.03.00)
Nom et adresse postale de l'administration chargée de la recherche internationale		Fonctionnaire autorisé Knehr, M n° de téléphone

# RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Demande internationale n°

PCT/fr 99/03141

C (suite). DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS		
Catégorie*	Documents cités avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents	n° des revendications visées
X	LIVACHE T ET AL.: "Electroconducting polymers for the construction of DNA or peptide arrays on silicon chips" BIOSENSORS & BIOELECTRONICS, vol. 13, 1998, pages 629-634, XP000869823 le document en entier ---	1-3,19, 20
X	LIVACHE T ET AL.: "Polypyrrole DNA chip on a silicon device: Example of hepatitis C virus typing" ANALYTICAL BIOCHEMISTRY, vol. 255, 1998, pages 188-194, XP002114813	1-3,19, 20
Y	abrégé page 188, colonne 1, alinéa 1 -page 190, colonne 1, alinéa 1; figures 1,2 colonne 2, alinéa 3 ---	6,8,10
Y	EP 0 229 993 A (POLAROID CORP) 29 Juillet 1987 (29.07.87) le document en entier ---	1-4,6-8, 10-12, 19,20
Y	US 5 653 939 A (KOSICKI BERNARD B ET AL) 5 Aout 1997 (05.08.97) abrégé colonne 11, ligne 11 - ligne 65; revendications 1-9 figures 15,16,21,22 ---	1-4
Y	EP 0 588 721 A (COMMISSARIAT ENERGIE ATOMIQUE) 23 Mars 1994 (23.03.94) le document en entier ---	1-3,7
Y	US 5 810 989 A (KRIHAK MICHAEL ET AL) 22 Septembre 1998 (22.10.98) le document en entier ---	1-3,10
Y	SIMON R A ET AL.: "Synthesis and characterization of a new surface derivatizing reagent to promote the adhesion of polypyrrole films to n-type silicon photoanodes: N-(3-(Trimethoxysilyl)propyl)pyrrole" JOURNAL OF THE AMERICAN CHEMICAL SOCIETY, vol. 104, 1982, pages 2031-2034, XP002114814 cité dans la demande le document en entier ---	8,9,11, 12

-/--

# RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Demande internationale n°

PCT/FR 99/03141

C (suite). DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS		
Catégorie*	Documents cités avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents	n° des revendications visées
Y	<p>GUISEPPI ELIE A AND WILSON A M: "specific immobilization of electropolymerized polypyrrole thin films onto interdigitated microsensor electrode arrays"</p> <p>LANGMUIR;</p> <p>vol. 11, 1995, pages 1768-1776,</p> <p>XP002114815</p> <p>abrege</p>	8,9,11, 19,20
A	<p>NISHIZAWA M ET AL.: "Electrochemical preparation of ultrathin polypyrrole film at microarray electrodes"</p> <p>JOURNAL OF PHYSICAL CHEMISTRY;</p> <p>VOL. 95, 1991, pages 9042-9044,</p> <p>XP002114816</p> <p>le document en entres</p>	
A	<p>EP 0 659 794 A (LORRAINE LAMINAGE)</p> <p>28 Juin 1995 (28.06.95)</p> <p>le document en entres</p>	
A	<p>EP 0 038 244 A (COMMISSARIAT ENERGIE ATOMIQUE) 21 Octobre 1981 (21.10.81)</p> <p>le document en entres</p>	
P,X	<p>BIDAN G ET AL.: "Conducting polymers as a link between biomolecules and microelectronics"</p> <p>SYNTHETIC METALS,</p> <p>vol. 102, 1999, pages 1363-1365,</p> <p>XP002114817</p> <p>le document en entres</p>	1,2,19, 20

**RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE**

Renseignements relatifs aux membres de familles de brevets

Demande Internationale No

PCT/FR 99/03141

Document brevet cité au rapport de recherche	Date de publication	Membre(s) de la famille de brevet(s)	Date de publication
US 5837859 A	17-11-1998	FR 2703359 A AT 159028 T DE 69406119 D DE 69406119 T DK 691978 T EP 0691978 A ES 2110228 T WO 9422889 A GR 3025738 T JP 8508311 T	07-10-1994 15-10-1997 13-11-1997 26-03-1998 25-05-1998 17-01-1996 01-02-1998 13-10-1994 31-03-1998 03-09-1996
EP 0229993 A	29-07-1987	CA 1311715 A JP 62181328 A US 4724053 A	22-12-1992 08-08-1987 09-02-1988
US 5653939 A	05-08-1997	US 5846708 A EP 0638173 A JP 7508831 T WO 9322678 A AT 176324 T DE 69228291 D DE 69228291 T EP 0543550 A JP 5322817 A US 5532128 A US 5670322 A US 5891630 A	08-12-1998 15-02-1995 28-09-1995 11-11-1993 15-02-1999 11-03-1999 02-06-1999 26-05-1993 07-12-1993 02-07-1996 23-09-1997 06-04-1998
EP 0588721 A	23-03-1994	FR 2696043 A JP 6188109 A	25-03-1994 08-07-1994
US 5810989 A	22-09-1998	NON	
EP 0659794 A	28-06-1995	FR 2714077 A AT 177444 T DE 69416971 D DE 69416971 T ES 2131654 T JP 7331491 A US 5522981 A	23-06-1995 15-03-1999 15-04-1999 07-10-1999 01-08-1999 19-12-1995 04-06-1996
EP 0038244 A	21-10-1981	FR 2480314 A	16-10-1981

1/3

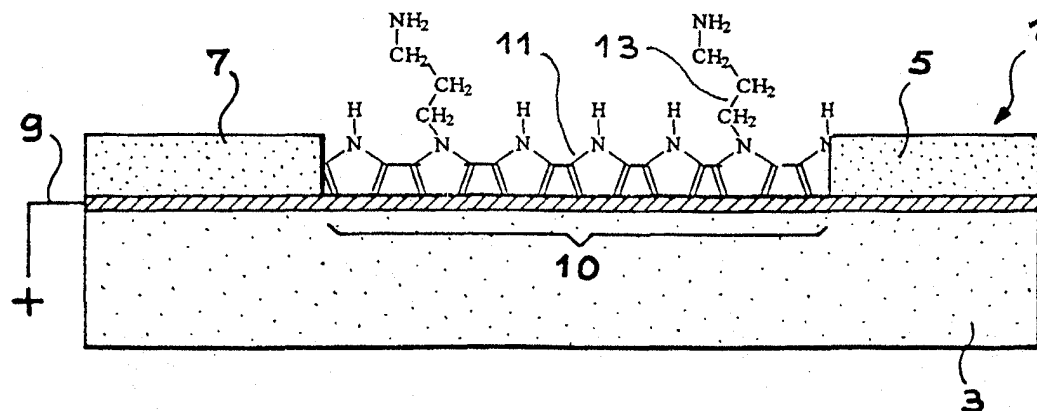


FIG. 1

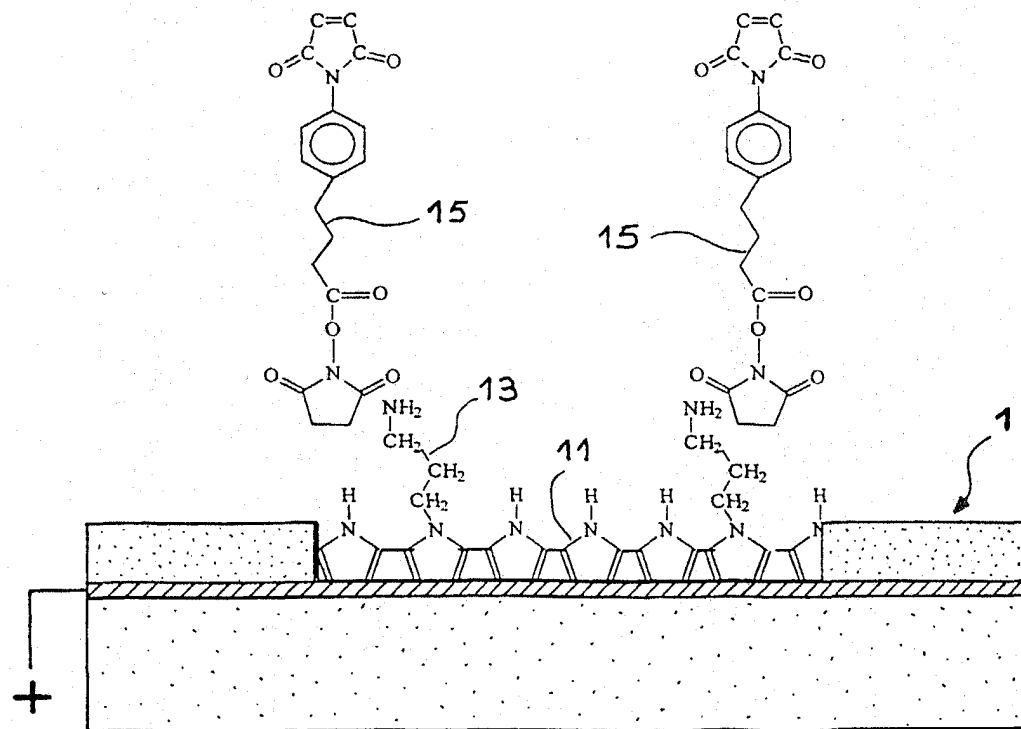


FIG. 2



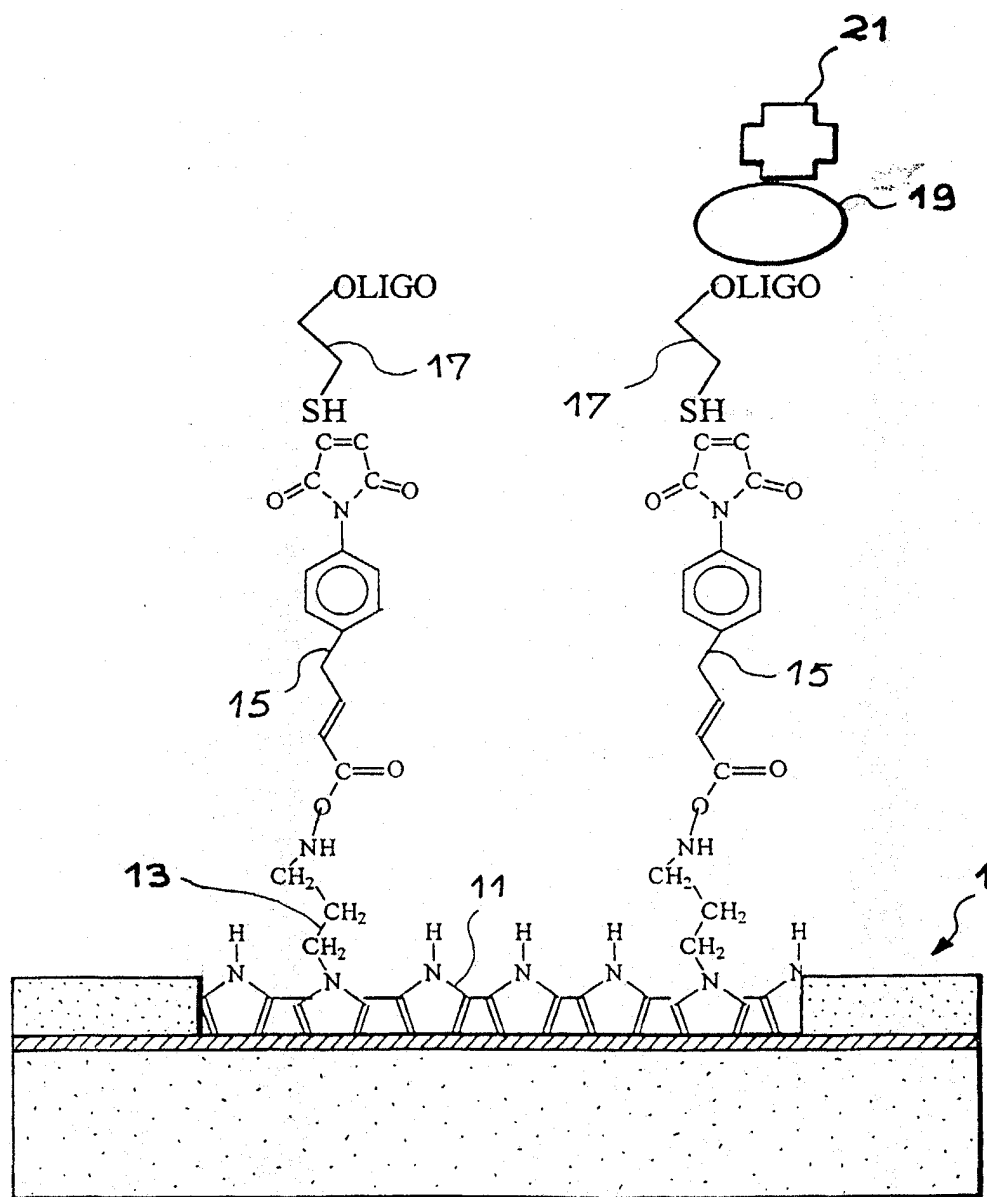


FIG. 3

3 / 3

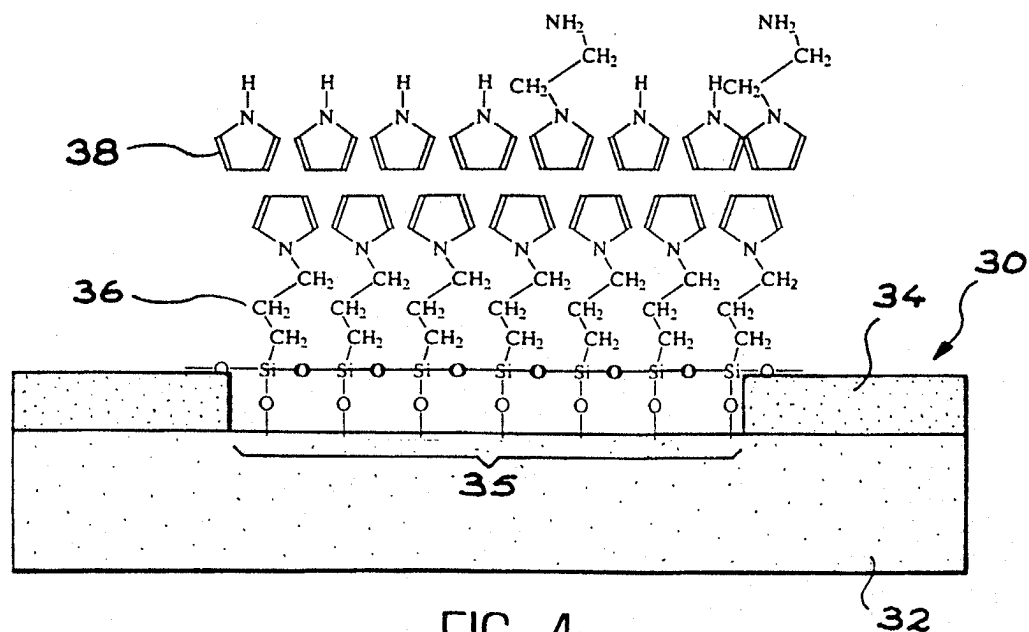


FIG. 4

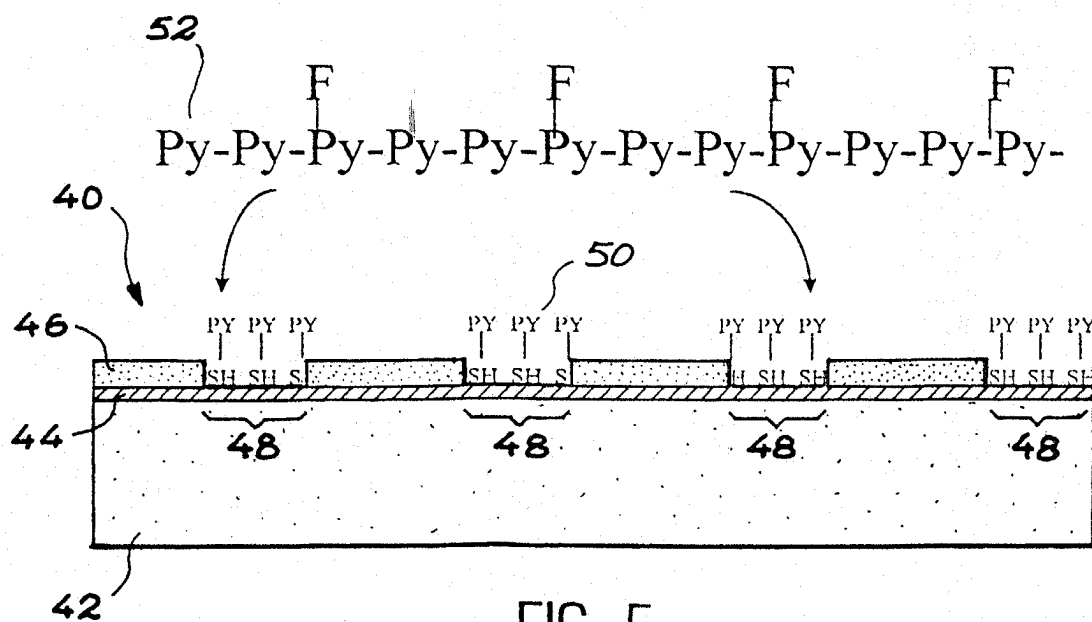


FIG. 5

09/868-043

**Translation**

PATENT COOPERATION TREATY

**PCT**

INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

(PCT Article 36 and Rule 70)

1600  
TECH CENTER 1600/2909  
NOV 29 2001  
RECEIVED

Applicant's or agent's file reference B 13193.3 EE		FOR FURTHER ACTION See Notification of Transmittal of International Preliminary Examination Report (Form PCT/IPEA/416)	
International application No. PCT/FR99/03141	International filing date (day/month/year) 15 December 1999 (15.12.99)	Priority date (day/month/year) 16 December 1998 (16.12.98)	
International Patent Classification (IPC) or national classification and IPC C12Q 1/68, G01N 33/543			
Applicant COMMISSARIAT A L'ENERGIE ATOMIQUE			

1. This international preliminary examination report has been prepared by this International Preliminary Examining Authority and is transmitted to the applicant according to Article 36.

2. This REPORT consists of a total of 7 sheets, including this cover sheet.

☒ This report is also accompanied by ANNEXES, i.e., sheets of the description, claims and/or drawings which have been amended and are the basis for this report and/or sheets containing rectifications made before this Authority (see Rule 70.16 and Section 607 of the Administrative Instructions under the PCT).

These annexes consist of a total of 4 sheets.

3. This report contains indications relating to the following items:

- I ☒ Basis of the report
- II ☒ Priority
- III ☐ Non-establishment of opinion with regard to novelty, inventive step and industrial applicability
- IV ☐ Lack of unity of invention
- V ☒ Reasoned statement under Article 35(2) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement
- VI ☐ Certain documents cited
- VII ☐ Certain defects in the international application
- VIII ☐ Certain observations on the international application

Date of submission of the demand 27 May 2000 (27.05.00)	Date of completion of this report 02 March 2001 (02.03.2001)
Name and mailing address of the IPEA/EP	Authorized officer
Facsimile No.	Telephone No.

# INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

International application No.

PCT/FR99/03141

## I. Basis of the report

1. This report has been drawn on the basis of (*Replacement sheets which have been furnished to the receiving Office in response to an invitation under Article 14 are referred to in this report as "originally filed" and are not annexed to the report since they do not contain amendments.*):

☐ the international application as originally filed.

☒ the description, pages 1,2,4-26, as originally filed,  
pages \_\_\_\_\_, filed with the demand,  
pages 3,3a, filed with the letter of 25 November 2000 (25.11.2000),  
pages \_\_\_\_\_, filed with the letter of \_\_\_\_\_.

☒ the claims, Nos. 3(in part), 4-12, (13- in part), (15- in part), 16-20, as originally filed,  
Nos. \_\_\_\_\_, as amended under Article 19,  
Nos. \_\_\_\_\_, filed with the demand,  
Nos. 1,2, (3-in part), (13-in part), filed with the letter of 21 November 2000 (21.11.2000),  
Nos. \_\_\_\_\_, filed with the letter of \_\_\_\_\_.

☒ the drawings, sheets/fig 1/3-3/3, as originally filed,  
sheets/fig \_\_\_\_\_, filed with the demand,  
sheets/fig \_\_\_\_\_, filed with the letter of \_\_\_\_\_,  
sheets/fig \_\_\_\_\_, filed with the letter of \_\_\_\_\_.

2. The amendments have resulted in the cancellation of:

☐ the description, pages \_\_\_\_\_

☐ the claims, Nos. \_\_\_\_\_

☐ the drawings, sheets/fig \_\_\_\_\_

3. ☐ This report has been established as if (some of) the amendments had not been made, since they have been considered to go beyond the disclosure as filed, as indicated in the Supplemental Box (Rule 70.2(c)).

4. Additional observations, if necessary:

INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

International application No.

PCT/FR99/03141

II. Priority

1. ☐ This report has been established as if no priority had been claimed due to the failure to furnish within the prescribed time limit the requested:
- ☐ copy of the earlier application whose priority has been claimed.
  - ☐ translation of the earlier application whose priority has been claimed.
2. ☐ This report has been established as if no priority had been claimed due to the fact that the priority claim has been found invalid.

Thus for the purposes of this report, the international filing date indicated above is considered to be the relevant date.

3. Additional observations, if necessary:

See the supplemental sheet.

**INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT**

International application No.

PCT/FR 99/03141

**Supplemental Box**

(To be used when the space in any of the preceding boxes is not sufficient)

Continuation of: II .

**Additional Remarks**

The present application validly claims the priority of document FR 98 15883 filed on 16.12.1998 (see also the PCT International Preliminary Examination Guidelines, PCT Gazette, Section IV, V-2).

The document Synthetic Metals, Vol.102, 1999, pages 1363-1365, cited in the international search report, is therefore not a prior art document according to PCT Article 33 and PCT Rule 64.1 for Claims 1-20.

# INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

International application No.

PCT/FR 99/03141

## V. Reasoned statement under Article 35(2) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement

### 1. Statement

Novelty (N)	Claims	1-19	YES
	Claims	20	NO
Inventive step (IS)	Claims	1-19	YES
	Claims	20	NO
Industrial applicability (IA)	Claims	1-20	YES
	Claims		NO

### 2. Citations and explanations

#### 1. Reference is made to the following documents:

- D1 US 5 837 859
- D2 Nucleic Acids Research, Vol.22(15), 1994, pages 2915-2921
- D3 Biosensors & Bioelectronics, Vol.13, 1998, pages 629-634
- D4 Analytical Biochemistry, Vol.255, 1998, pages 188-194
- D5 Langmuir, Vol.11, 1995, pages 1768-1776

#### 2. Industrial applicability (PCT Article 33(4)):

The content of Claims 1-20 is industrially applicable.

#### 3. Novelty (PCT Article 33(2)):

Claim 1 of the present application appears to differ from D1 by virtue of step (a) (by comparison, see D1, column 5, lines 25-32; column 6, lines 55-60; column 14, Examples 4, 6 and 7). Moreover, D1 does not appear to explicitly indicate that a collective electropolymerisation occurs (see step (b) of Claim 1 of the present application).

The incipient biochip and the biochip of Claims 19 and 20

of the present application, respectively appear to differ from the biochips and incipient biochips of D1 in that a resin film in which microwells were produced is present. Claims 1-20 of the present application therefore appear to be novel over D1 (PCT Article 33(2)).

For the same reasons as those given in relation to D1, D2 and D5 do not appear to anticipate the content of Claims 1-20 of the present application (see D2, abstract and page 2920, column 2 and D5, abstract).

Documents D3 and D4 do not appear to describe step (b) of Claim 1 of the present application (see D3, page 630, Chapter 2.3 and D4, page 189, column 2 and Figure 1). Claims 1-18 are therefore novel over D3 and D4. It is noted that Claim 1 does not include a restriction indicating that the material is a single film. D3 and D4 do not describe incipient biochips as they are defined in the present application (see Claims 1 and 2); therefore, Claim 19 is novel over D3 and D4.

It appears that all of the technical features of Claim 20 are disclosed in documents D3 and D4 (see D3, page 630, column 1, Chapters 2.2.1 and 2.3 and D4, page 189, column 1, Chapter silicon chips). It is to be noted that it is not indicated in Claim 20 that the biochip contains a single electrode.

In conclusion, Claim 20 is not considered to be novel in light of documents D3 and D4.

4. Inventive step (PCT Article 33(3)):

The closest prior art document for evaluating Claim 1 of the present application appears to be document D1, which appears to describe the production of incipient biochips



**INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT**

International application No.

PCT/FR 99/03141

(see Examples 4 and 7 of D1).

The problem solved by Claim 1 can therefore be considered to be the development of an alternative method for the fabrication of incipient biochips.

The solution to this problem involves a combination of steps (a) and (b) of Claim 1.

It appears that this solution could not have been obviously derived from document D1 or from any other document cited above and considered in combination with D1.

Claims 1-18 therefore fulfil the requirements of PCT Article 33(3).

It follows that Claim 19, which has as subject matter an incipient biochip, is also considered to be inventive. It is noted that D3 and D4 do not mention the possibility of creating an incipient biochip, but describe only biochips comprising a DNA probe.

Translation of Category of Cited Documents in the attached foreign language Search Report:

- X: particularly relevant if taken alone
  - Y: particularly relevant if combined with another document of the same category
  - A: relevant to at least one claim or as technological background
  - O: . non-written disclosure
  - P: intermediate document
  - T: theory or principle underlying the invention
  - E: document entitled to a date prior to the filing date but which was not published until the filing date or a later date
  - D: document cited in the application
  - L: document cited for other reasons
- 
- &: member of the same patent family, corresponding document

établi sur la base des dernières revendications  
déposées avant le commencement de la recherche

DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS		Revendications concernées de la demande examinée
Catégorie	Citation du document avec indication, en cas de besoin, des parties pertinentes	
X	US 5 837 859 A (ROGET ANDRE ET AL) 17 novembre 1998 (1998-11-17)	1-5, 9-16, 18
Y	* le document en entier *	7
X	LIVACHE T ET AL.: "Preparation of a DNA matrix via an electrochemically directed copolymerization of pyrrole and oligonucleotides bearing a pyrrole group" NUCLEIC ACIDS RESEARCH, vol. 22, no. 15, 1994, pages 2915-2921, XP002114812	1, 4, 5, 9-13, 15, 16, 18
	* le document en entier *	
X	LIVACHE T ET AL.: "Polypyrrole DNA chip on a silicon device: Example of hepatitis C virus typing" ANALYTICAL BIOCHEMISTRY, vol. 255, 1998, pages 188-194, XP002114813	1, 2, 18
Y	* abrégé *	5, 7, 9
	* page 188, colonne 1, alinéa 1 - page 190, colonne 1, alinéa 1; figures 1, 2 *	
	* page 191, colonne 1, alinéa 1 - page 192, colonne 2, alinéa 3 *	
Y	EP 0 229 993 A (POLAROID CORP) 29 juillet 1987 (1987-07-29)	1-3, 5-7, 9-11, 18
	* le document en entier *	
Y	US 5 653 939 A (KOSICKI BERNARD B ET AL) 5 août 1997 (1997-08-05)	1-3
	* abrégé *	
	* colonne 11, ligne 11 - ligne 65; revendications 1-9; figures 15, 16, 21, 22 *	
Y	EP 0 588 721 A (COMMISSARIAT ENERGIE ATOMIQUE) 23 mars 1994 (1994-03-23)	1, 2, 6
	* le document en entier *	
-/-		
Date d'achèvement de la recherche		Examineur
9 septembre 1999		Knehr, M
<p>CATEGORIE DES DOCUMENTS CITES</p> <p>X : particulièrement pertinent à lui seul  Y : particulièrement pertinent en combinaison avec un autre document de la même catégorie  A : pertinent à l'encontre d'au moins une revendication ou arrière-plan technologique général  O : divulgation non-écrite  P : document intercalaire</p> <p>T : théorie ou principe à la base de l'invention  E : document de brevet bénéficiant d'une date antérieure à la date de dépôt et qui n'a été publié qu'à cette date de dépôt ou qu'à une date postérieure.  D : cite dans la demande  L : cite pour d'autres raisons</p> <p>&amp; : membre de la même famille, document correspondant</p>		



RAPPORT DE RECHERCHE  
PRELIMINAIREétabli sur la base des dernières revendications  
déposées avant le commencement de la rechercheN° d'enregistrement  
nationalFA 568740  
FR 9815883

DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS		Revendications concernées de la demande examinée
Catégorie	Citation du document avec indication, en cas de besoin, des parties pertinentes	
A	EP 0 038 244 A (COMMISSARIAT ENERGIE ATOMIQUE) 21 octobre 1981 (1981-10-21) / * le document en entier *	1,18
P,X	BIDAN G ET AL.: "Conducting polymers as a link between biomolecules and microelectronics" SYNTHETIC METALS, vol. 102, 1999, pages 1363-1365, / XP002114817 * le document en entier *	
		DOMAINES TECHNIQUES RECHERCHES (Int.CL.6)
Date d'achèvement de la recherche		Examineur
9 septembre 1999		Knehr, M
<b>CATEGORIE DES DOCUMENTS CITES</b>		
T : théorie ou principe à la base de l'invention E : document de brevet bénéficiant d'une date antérieure à la date de dépôt et qui n'a été publié qu'à cette date de dépôt ou qu'à une date postérieure. D : cité dans la demande L : cité pour d'autres raisons & : membre de la même famille, document correspondant		
X : particulièrement pertinent à lui seul Y : particulièrement pertinent en combinaison avec un autre document de la même catégorie A : pertinent à l'encontre d'au moins une revendication ou arrière-plan technologique général O : divulgation non-écrite P : document intercalaire		

1

EPO FORM 1503 03.82 (P04C13)

**ANNEXE AU RAPPORT DE RECHERCHE PRELIMINAIRE  
RELATIF A LA DEMANDE DE BREVET FRANÇAIS NO.**

FA 568740  
FR 9815883

La présente annexe indique les membres de la famille de brevets relatifs aux documents brevets cités dans le rapport de recherche préliminaire visé ci-dessus.  
Lesdits membres sont contenus au fichier informatique de l'Office européen des brevets à la date du  
Les renseignements fournis sont donnés à titre indicatif et n'engagent pas la responsabilité de l'Office européen des brevets,  
ni de l'Administration française

09-09-1999

Document brevet cité au rapport de recherche		Date de publication	Membre(s) de la famille de brevet(s)	Date de publication
US 5837859	A	17-11-1998	FR 2703359 A	07-10-1994
			AT 159028 T	15-10-1997
			DE 69406119 D	13-11-1997
			DE 69406119 T	26-03-1998
			DK 691978 T	25-05-1998
			EP 0691978 A	17-01-1996
			ES 2110228 T	01-02-1998
			WO 9422889 A	13-10-1994
			GR 3025738 T	31-03-1998
			JP 8508311 T	03-09-1996
EP 0229993	A	29-07-1987	CA 1311715 A	22-12-1992
			JP 62181328 A	08-08-1987
			US 4724053 A	09-02-1988
US 5653939	A	05-08-1997	US 5846708 A	08-12-1998
			EP 0638173 A	15-02-1995
			JP 7508831 T	28-09-1995
			WO 9322678 A	11-11-1993
			AT 176324 T	15-02-1999
			DE 69228291 D	11-03-1999
			DE 69228291 T	02-06-1999
			EP 0543550 A	26-05-1993
			JP 5322817 A	07-12-1993
			US 5532128 A	02-07-1996
			US 5670322 A	23-09-1997
			US 5891630 A	06-04-1998
EP 0588721	A	23-03-1994	FR 2696043 A	25-03-1994
			JP 6188109 A	08-07-1994
US 5810989	A	22-09-1998	AUCUN	
EP 0659794	A	28-06-1995	FR 2714077 A	23-06-1995
			AT 177444 T	15-03-1999
			DE 69416971 D	15-04-1999
			JP 7331491 A	19-12-1995
			US 5522981 A	04-06-1996
EP 0038244	A	21-10-1981	FR 2480314 A	16-10-1981

# PATENT COOPERATION TREATY

## PCT

### INTERNATIONAL SEARCH REPORT

(PCT Article 18 and Rules 43 and 44)

Applicant's or agent's file reference <b>B 13193 3 EE</b>	<b>FOR FURTHER ACTION</b>		see Notification of Transmittal of International Search Report (Form PCT/ISA/220) as well as, where applicable, Item 5 below.
International application No. <b>PCT/FR 99/ 03141</b>	International filing date (day/month/year) <b>15/12/1999</b>	(Earliest) Priority Date (day/month/year) <b>16/12/1998</b>	
Applicant  <b>COMMISSARIAT A L'ENERGIE ATOMIQUE et al.</b>			

This International Search Report has been prepared by this International Searching Authority and is transmitted to the applicant according to Article 18. A copy is being transmitted to the International Bureau.

This International Search Report consists of a total of 4 sheets.

☒ It is also accompanied by a copy of each prior art document cited in this report.

**1. Basis of the report**

a. With regard to the language, the international search was carried out on the basis of the international application in the language in which it was filed, unless otherwise indicated under this item.

☐ the international search was carried out on the basis of a translation of the international application furnished to this Authority (Rule 23.1(b)).

b. With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application, the international search was carried out on the basis of the sequence listing:

☐ contained in the international application in written form.

☐ filed together with the international application in computer readable form.

☐ furnished subsequently to this Authority in written form.

☐ furnished subsequently to this Authority in computer readable form.

☐ the statement that the subsequently furnished written sequence listing does not go beyond the disclosure in the international application as filed has been furnished.

☐ the statement that the information recorded in computer readable form is identical to the written sequence listing has been furnished.

2. ☐ Certain claims were found unsearchable (See Box I).

3. ☐ Unity of invention is lacking (see Box II).

4. With regard to the title,

☒ the text is approved as submitted by the applicant.

☐ the text has been established by this Authority to read as follows:

5. With regard to the abstract,

☒ the text is approved as submitted by the applicant.

☐ the text has been established, according to Rule 38.2(b), by this Authority as it appears in Box III. The applicant may, within one month from the date of mailing of this international search report, submit comments to this Authority.

6. The figure of the drawings to be published with the abstract is Figure No.

☐ as suggested by the applicant.

☒ because the applicant failed to suggest a figure.

☐ because this figure better characterizes the invention.

1, 2  
☐ None of the figures.

# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No.

PCT/FR 99/03141

## A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

IPC 7 C12Q1/68 G01N33/543

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

## B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

IPC 7 C12Q G01N

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the International search (name of data base and, where practical, search terms used)

## C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	US 5 837 859 A (ROGET ANDRE ET AL) 17 November 1998 (1998-11-17)	1-6, 10-17, 19,20
Y	the whole document	8
X	LIVACHE T ET AL.: "Preparation of a DNA matrix via an electrochemically directed copolymerization of pyrrole and oligonucleotides bearing a pyrrole group" NUCLEIC ACIDS RESEARCH, vol. 22, no. 15, 1994, pages 2915-2921, XP002114812 the whole document	1,5,6, 10-14, 16,17, 19,20

☒ Further documents are listed in the continuation of box C.

☒ Patent family members are listed in annex.

\* Special categories of cited documents:

- "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
- "E" earlier document but published on or after the International filing date
- "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
- "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
- "P" document published prior to the International filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the International filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the International search

15 March 2000

Date of mailing of the International search report

22/03/2000

Name and mailing address of the ISA

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2  
NL - 2280 HV Rijswijk  
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,  
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Knehr, M



## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No.

PCT/FR 99/03141

## C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	LIVACHE T ET AL.: "Electroconducting polymers for the construction of DNA or peptide arrays on silicon chips" BIOSENSORS & BIOELECTRONICS, vol. 13, 1998, pages 629-634, XP000869823 the whole document ---	1-3, 19, 20
X	LIVACHE T ET AL.: "Polypyrrole DNA chip on a silicon device: Example of hepatitis C virus typing" ANALYTICAL BIOCHEMISTRY, vol. 255, 1998, pages 188-194, XP002114813 abstract ---	1-3, 19, 20
Y	page 188, column 1, paragraph 1 -page 190, column 1, paragraph 1; figures 1,2 page 191, column 1, paragraph 1 -page 192, column 2, paragraph 3 ---	6, 8, 10
Y	EP 0 229 993 A (POLAROID CORP) 29 July 1987 (1987-07-29)  the whole document ---	1-4, 6-8, 10-12, 19, 20
Y	US 5 653 939 A (KOSICKI BERNARD B ET AL) 5 August 1997 (1997-08-05) abstract column 11, line 11 - line 65; claims 1-9; figures 15, 16, 21, 22 ---	1-4
Y	EP 0 588 721 A (COMMISSARIAT ENERGIE ATOMIQUE) 23 March 1994 (1994-03-23) the whole document ---	1-3, 7
Y	US 5 810 989 A (KRIHAK MICHAEL ET AL) 22 September 1998 (1998-09-22) the whole document ---	1-3, 10
Y	SIMON R A ET AL.: "Synthesis and characterization of a new surface derivatizing reagent to promote the adhesion of polypyrrole films to n-type silicon photoanodes: N-(3-(Trimethoxysilyl)propyl)pyrrole" JOURNAL OF THE AMERICAN CHEMICAL SOCIETY, vol. 104, 1982, pages 2031-2034, XP002114814 cited in the application the whole document ---	8, 9, 11, 12
	---	
	-/--	

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No

PCT/FR 99/03141

## C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	GUISEPPI-ELIE A AND WILSON A M: "Specific immobilization of electropolymerized polypyrrole thin films onto interdigitated microsensor electrode arrays" LANGMUIR, vol. 11, 1995, pages 1768-1776, XP002114815 abstract	8,9,11, 19,20
A	--- NISHIZAWA M ET AL.: "Electrochemical preparation of ultrathin polypyrrole film at microarray electrodes" JOURNAL OF PHYSICAL CHEMISTRY, vol. 95, 1991, pages 9042-9044, XP002114816 the whole document	
A	--- EP 0 659 794 A (LORRAINE LAMINAGE) 28 June 1995 (1995-06-28) the whole document	
A	--- EP 0 038 244 A (COMMISSARIAT ENERGIE ATOMIQUE) 21 October 1981 (1981-10-21) the whole document	
P,X	--- BIDAN G ET AL.: "Conducting polymers as a link between biomolecules and microelectronics" SYNTHETIC METALS, vol. 102, 1999, pages 1363-1365, XP002114817 the whole document	1,2,19, 20

# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No

PCT/FR 99/03141

Patent document cited in search report		Publication date	Patent family member(s)	Publication date
US 5837859	A	17-11-1998	FR 2703359 A AT 159028 T DE 69406119 D DE 69406119 T DK 691978 T EP 0691978 A ES 2110228 T WO 9422889 A GR 3025738 T JP 8508311 T	07-10-1994 15-10-1997 13-11-1997 26-03-1998 25-05-1998 17-01-1996 01-02-1998 13-10-1994 31-03-1998 03-09-1996
EP 0229993	A	29-07-1987	CA 1311715 A JP 62181328 A US 4724053 A	22-12-1992 08-08-1987 09-02-1988
US 5653939	A	05-08-1997	US 5846708 A EP 0638173 A JP 7508831 T WO 9322678 A AT 176324 T DE 69228291 D DE 69228291 T EP 0543550 A JP 5322817 A US 5532128 A US 5670322 A US 5891630 A	08-12-1998 15-02-1995 28-09-1995 11-11-1993 15-02-1999 11-03-1999 02-06-1999 26-05-1993 07-12-1993 02-07-1996 23-09-1997 06-04-1998
EP 0588721	A	23-03-1994	FR 2696043 A JP 6188109 A	25-03-1994 08-07-1994
US 5810989	A	22-09-1998	NONE	
EP 0659794	A	28-06-1995	FR 2714077 A AT 177444 T DE 69416971 D DE 69416971 T ES 2131654 T JP 7331491 A US 5522981 A	23-06-1995 15-03-1999 15-04-1999 07-10-1999 01-08-1999 19-12-1995 04-06-1996
EP 0038244	A	21-10-1981	FR 2480314 A	16-10-1981



## DEMANDE INTERNATIONALE PUBLIÉE EN VERTU DU TRAITE DE COOPERATION EN MATIÈRE DE BREVETS (PCT)

(51) Classification internationale des brevets <sup>7</sup> : <b>C12Q 1/68, G01N 33/543</b>	A1	(11) Numéro de publication internationale: <b>WO 00/36145</b> (43) Date de publication internationale: 22 juin 2000 (22.06.00)
<p>(21) Numéro de la demande internationale: PCT/FR99/03141</p> <p>(22) Date de dépôt international: 15 décembre 1999 (15.12.99)</p> <p>(30) Données relatives à la priorité: 98/15883 16 décembre 1998 (16.12.98) FR</p> <p>(71) Déposant (pour tous les Etats désignés sauf US): COMMISSARIAT A L'ENERGIE ATOMIQUE [FR/FR]; 31-33, rue de la Fédération, F-75752 Paris 15ème (FR).</p> <p>(72) Inventeurs; et (75) Inventeurs/Déposants (US seulement): ROSILIO, Charles [FR/FR]; 16, allée de la Pommeraie, F-91190 Gif-sur-Yvette (FR). CAILLAT, Patrice [FR/FR]; 10, rue de Provence, F-38130 Echirolles (FR).</p> <p>(74) Mandataire: DES TERMES, Monique; BREVATOME, 3, rue du Docteur Lancereaux, F-75008 Paris (FR).</p>		<p>(81) Etats désignés: JP, US, brevet européen (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE).</p> <p>Publiée Avec rapport de recherche internationale.</p>

(54) Title: METHOD FOR MAKING A BIOCHIP AND BIOCHIP

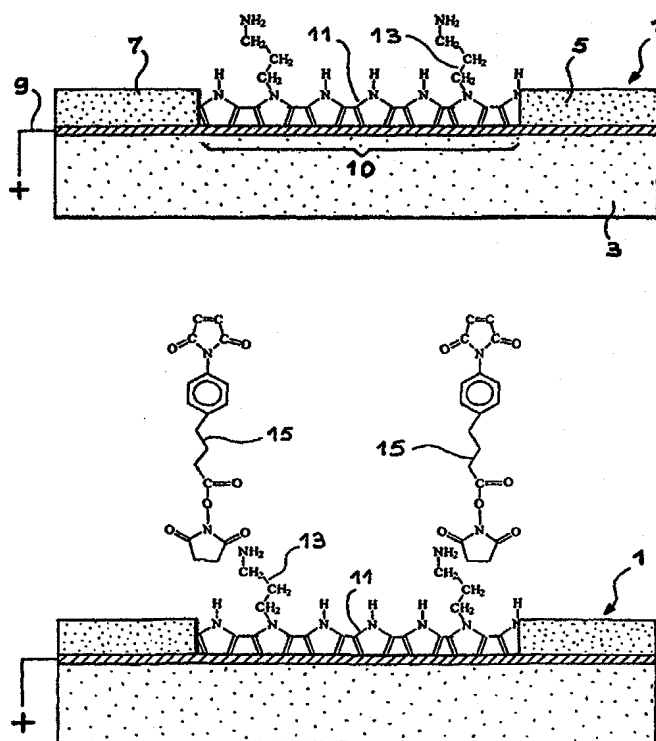
(54) Titre: PROCEDE DE FABRICATION D'UNE BIOPUCE ET BIOPUCE

## (57) Abstract

The invention concerns a method for making a biochip and a biochip, said biochip consisting in particular of biological probes grafted on an conductive polymer. The inventive method comprises the following steps: a) structuring a substrate so as to obtain on said substrate microwells comprising at their base a layer of a material capable of initiating and promoting adhesion thereon of a copolymer film of pyrrole and pyrrole functionalised by electropolymerisation; b) collective electropolymerisation so as to form an electropolymerised film of a copolymer of pyrrole or functionalised pyrrole on the base of said microwells; c) directly or indirectly fixing functionalised oligonucleotides by micro-deposition or liquid jet printing process.

## (57) Abrégé

La présente invention se rapporte à un procédé de fabrication d'une biopuce et à une biopuce, ladite biopuce étant constituée notamment de sondes biologiques greffées sur un polymère conducteur. Le procédé de l'invention comprend les étapes suivantes : a) structuration d'un substrat de manière à obtenir sur ce substrat des microcuvettes comprenant dans leur fond une couche d'un matériau capable d'initier et de promouvoir l'adhésion sur celle-ci d'un film d'un copolymère de pyrrole et de pyrrole fonctionnalisé par électropolymérisation, b) électropolymérisation collective, de manière à former un film électropolymérisé d'un copolymère de pyrrole et de pyrrole fonctionnalisé sur le fond desdites microcuvettes, c) fixation directe ou indirecte d'oligonucléotides fonctionnalisés par microdéposition ou technique d'impression par jets de liquide.



## TRAITE DE COOPERATION EN MATIERE DE BREVETS

PCT

## NOTIFICATION D'ELECTION

(règle 61.2 du PCT)

Expéditeur: le BUREAU INTERNATIONAL

Destinataire:

Assistant Commissioner for Patents  
United States Patent and Trademark  
Office  
Box PCT  
Washington, D.C.20231  
ETATS-UNIS D'AMERIQUE

en sa qualité d'office élu

<b>Date d'expédition</b> (jour/mois/année) 01 août 2000 (01.08.00)	
<b>Demande internationale no</b> PCT/FR99/03141	<b>Référence du dossier du déposant ou du mandataire</b> B 13193.3 EE
<b>Date du dépôt international</b> (jour/mois/année) 15 décembre 1999 (15.12.99)	<b>Date de priorité</b> (jour/mois/année) 16 décembre 1998 (16.12.98)
<b>Déposant</b> ROSILIO, Charles etc	

1. L'office désigné est avisé de son élection qui a été faite:

☒ dans la demande d'examen préliminaire international présentée à l'administration chargée de l'examen préliminaire international le:

27 mai 2000 (27.05.00)

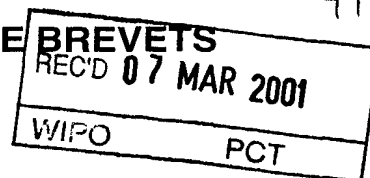
☐ dans une déclaration visant une élection ultérieure déposée auprès du Bureau international le:

2. L'élection ☒ a été faite

☐ n'a pas été faite

avant l'expiration d'un délai de 19 mois à compter de la date de priorité ou, lorsque la règle 32 s'applique, dans le délai visé à la règle 32.2b).

<b>Bureau international de l'OMPI</b> 34, chemin des Colombettes 1211 Genève 20, Suisse no de télécopieur: (41-22) 740.14.35	<b>Fonctionnaire autorisé</b> Antonia Muller no de téléphone: (41-22) 338.83.38
---	---



RAPPORT D'EXAMEN PRELIMINAIRE INTERNATIONAL



(article 36 et règle 70 du PCT)

Référence du dossier du déposant ou du mandataire B 13193.3 EE	<b>POUR SUITE A DONNER</b> voir la notification de transmission du rapport d'examen préliminaire international (formulaire PCT/IPEA/416)	
Demande internationale n° PCT/FR99/03141	Date du dépôt international (jour/mois/année) 15/12/1999	Date de priorité (jour/mois/année) 16/12/1998
Classification internationale des brevets (CIB) ou à la fois classification nationale et CIB C12Q1/68		
Déposant COMMISSARIAT A L'ENERGIE ATOMIQUE et al.		

1. Le présent rapport d'examen préliminaire international, établi par l'administration chargée de l'examen préliminaire international, est transmis au déposant conformément à l'article 36.
2. Ce RAPPORT comprend 7 feuilles, y compris la présente feuille de couverture.
  - ☒ Il est accompagné d'ANNEXES, c'est-à-dire de feuilles de la description, des revendications ou des dessins qui ont été modifiées et qui servent de base au présent rapport ou de feuilles contenant des rectifications faites auprès de l'administration chargée de l'examen préliminaire international (voir la règle 70.16 et l'instruction 607 des Instructions administratives du PCT).

Ces annexes comprennent 4 feuilles.

3. Le présent rapport contient des indications relatives aux points suivants:
  - I ☒ Base du rapport
  - II ☒ Priorité
  - III ☐ Absence de formulation d'opinion quant à la nouveauté, l'activité inventive et la possibilité d'application industrielle
  - IV ☐ Absence d'unité de l'invention
  - V ☒ Déclaration motivée selon l'article 35(2) quant à la nouveauté, l'activité inventive et la possibilité d'application industrielle; citations et explications à l'appui de cette déclaration
  - VI ☐ Certains documents cités
  - VII ☐ Irrégularités dans la demande internationale
  - VIII ☐ Observations relatives à la demande internationale

Date de présentation de la demande d'examen préliminaire internationale  27/05/2000	Date d'achèvement du présent rapport  02.03.2001
Nom et adresse postale de l'administration chargée de l'examen préliminaire international:   Office européen des brevets D-80298 Munich Tél. +49 89 2399 - 0 Tx: 523656 epmu d Fax: +49 89 2399 - 4465	Fonctionnaire autorisé  Renggli, J  N° de téléphone +49 89 2399 7461 

## Demande internationale n° PCT/FR99/03141

## Formulaire PCT/IPEA/409 (cadres I-VIII, feuille 1) (juillet 1998)

**RAPPORT D'EXAMEN  
PRÉLIMINAIRE INTERNATIONAL**

Demande internationale n° PCT/FR99/03141

- ☐ remis ultérieurement à l'administration, sous forme déchiffrable par ordinateur.
- ☐ La déclaration, selon laquelle le listage des séquences par écrit et fourni ultérieurement ne va pas au-delà de la divulgation faite dans la demande telle que déposée, a été fournie.
- ☐ La déclaration, selon laquelle les informations enregistrées sous déchiffrable par ordinateur sont identiques à celles du listage des séquences Présenté par écrit, a été fournie.

4. Les modifications ont entraîné l'annulation :

- ☐ de la description, pages :
- ☐ des revendications, n°s :
- ☐ des dessins, feuilles :

5. ☐ Le présent rapport a été formulé abstraction faite (de certaines) des modifications, qui ont été considérées comme allant au-delà de l'exposé de l'invention tel qu'il a été déposé, comme il est indiqué ci-après (règle 70.2(c)) :

*(Toute feuille de remplacement comportant des modifications de cette nature doit être indiquée au point 1 et annexée au présent rapport)*

6. Observations complémentaires, le cas échéant :

**II. Priorité**

1. ☐ Le présent rapport a été formulée comme si aucune priorité n'avait été revendiquée, du fait que les documents suivants n'ont pas été remis dans le délai prescrit :
- ☐ copie de la demande antérieure dont la priorité a été revendiquée.
  - ☐ traduction de la demande antérieure dont la priorité a été revendiquée.
2. ☐ Le présent rapport a été formulée comme si aucune priorité n'avait été revendiquée, du fait que la revendication de la priorité a été jugée non valable.

Pour les besoins du présent rapport, la date de dépôt international indiquée plus haut est donc considérée comme la date pertinente.

3. Observations complémentaires, le cas échéant :  
**voir feuille séparée**

**V. Déclaration motivée selon l'article 35(2) quant à la nouveauté, l'activité inventive et la possibilité d'application industrielle; citations et explications à l'appui de cette déclaration**

1. Déclaration

Nouveauté	Oui : Revendications 1-19
	Non : Revendications 20
Activité inventive	Oui : Revendications 1-19



**RAPPORT D'EXAMEN  
PRÉLIMINAIRE INTERNATIONAL**

Demande internationale n° PCT/FR99/03141

---

Non : Revendications 20

Possibilité d'application industrielle Oui : Revendications 1-20  
Non : Revendications

2. Citations et explications  
**voir feuille séparée**

## **Section II: Remarques additionnelles**

La présente demande revendique valablement la priorité du document FR 98 15883 déposé le 16.12.1998 (voir aussi les Directives PCT concernant l'examen préliminaire international, Gazette PCT-Section IV, V-2).

Le document Synthetic Metals, Vol. 102, 1999, pp. 1363-1365 cité dans le rapport de recherche internationale n'est donc pas un document de l'art antérieur selon l'Article 33 et la Règle 64.1 PCT pour les revendications 1-20.

## **Section V:**

1. Il est fait référence aux documents suivants:

- D1 US 5,837,859
- D2 Nucleic Acids Research, Vol. 22 (15), 1994, pp. 2915-2921
- D3 Biosensors & Bioelectronics, Vol. 13, 1998, pp. 629-634
- D4 Analytical Biochemistry, Vol. 255, 1998, pp. 188-194
- D5 Langmuir, Vol. 11, 1995, pp. 1768-1776

2. Application industrielle (Art. 33(4) PCT):

Le contenu des revendications 1-20 est susceptible d'application industrielle.

3. Nouveauté (Art. 33(2) PCT):

La revendication 1 de la présente demande semble se différencier de D1 par l'étape a) (par analogie voir D1, colonne 5, lignes 25-32; colonne 6, lignes 55-60; colonne 14, exemples 4, 6 et 7). De plus, D1 ne semble pas explicitement indiquer qu'une électropolymérisation collective ait lieu (voir étape b) de la revendication 1 de la présente demande).

L'ébauche de biopuce, respectivement la biopuce des revendications 19 et 20 de la présente demande semblent se différencier des biopuces et ébauche de biopuces de D1 en ce que une couche de résine dans laquelle des microcuvettes ont été réalisées

est présente.

Les revendications 1-20 de la présente demande semblent donc nouvelles par rapport à D1 (Art. 33(2) PCT).

Pour les mêmes raisons que D1, D2 et D5 ne semblent pas anticiper le contenu des revendications 1-20 de la présente demande (voir D2, résumé et page 2920, 2e colonne et D5, résumé).

Les documents D3 et D4 ne décrivent apparemment pas l'étape b) de la revendication 1 de la présente demande (voir D3, page 630, chapitre 2.3 et D4, page 189, 2e colonne et fig. 1). Les revendications 1-18 sont donc nouvelles par rapport à D3 et D4. Il est noté que la revendication 1 ne comprend pas de limitation indiquant que le matériau est une couche unique.

D3 et D4 ne décrivent pas d'ébauches de biopuces telles que définies dans la présente demande (voir revendications 1 et 2), la revendication 19 est donc nouvelle par rapport à D3 et D4.

En ce qui concerne la revendication 20, il semble que toutes ses caractéristiques techniques soient exposées dans les documents D3 et D4 (voir D3, page 630, 1e colonne, chapitres 2.2.1 et 2.3 et D4, page 189, 1e colonne, chapitre silicon chips). Il est à noter qu'il n'est nullement indiqué dans la revendication 20 que la biopuce contient une électrode unique.

En conclusion, il est considéré que la revendication 20 n'est pas nouvelle à la lumière des documents D3 et D4.

#### 4. Activité inventive (Art. 33(3) PCT):

Le document de l'art antérieur le plus proche pour évaluer la revendication 1 de la présente demande semble être le document D1 qui semble décrire la production d'ébauche de biopuces (voir exemples 4 et 7 de D1).

Le problème résolu par la revendication 1 peut donc être considéré comme la mise au point d'une méthode alternative pour la fabrication d'ébauche de biopuces.

La solution à ce problème consiste en une combinaison des étapes a) et b) de la

**RAPPORT D'EXAMEN**  
**PRELIMINAIRE INTERNATIONAL - FEUILLE SEPAREE**

---

Demande internationale n° PCT/FR99/03141

revendication 1.

Cette solution ne semble pouvoir être dérivée de façon évidente du document D1 ou de tout autre document cité ci-dessus et considéré en combinaison avec D1.

Les revendications 1-18 remplissent donc les conditions énoncées dans l' article 33(3) PCT.

Il s'ensuit que la revendication 19, ayant pour objet une ébauche de biopuce, est également considérée comme inventive. Il est noté que D3 et D4 ne mentionnent pas la possibilité de créer une ébauche de biopuce, mais décrivent uniquement des biopuces comportant une sonde biologique.

D'autres procédés ont encore été décrits dans l'art antérieur remplaçant avantageusement l'adressage électrique individuel par un adressage mécanique. Il reste cependant un inconvénient, celui de réaliser des électropolymérisations dans des microcuvettes, avec un volume de solution de l'ordre du nanolitre, pour lequel il est nécessaire de retarder l'évaporation après micropipetage de l'ensemble des sondes sur la plaquette afin que l'électropolymérisation puisse se faire.

10

← 3a →

Exposé de l'invention

La présente invention a précisément pour but de résoudre les problèmes précités en fournissant un procédé de fabrication d'une biopuce constituée notamment de sondes biologiques greffées sur un polymère conducteur, ledit procédé présentant notamment l'avantage de ne nécessiter l'utilisation que d'une seule solution d'un mélange en proportion adéquate de pyrrole et de pyrrole substitué (Py et Py-R-F ou F et une fonction chimique réactive et R est un groupement espaceur aliphatique ou aromatique) pour une seule électrodéposition collective sur l'ensemble des microcuvettes.

Le procédé de l'invention se caractérise en ce qu'il comprend les étapes suivantes :

- a) structuration d'un substrat de manière à obtenir sur ce substrat des microcuvettes comprenant dans leur fond une couche d'un matériau capable d'initier et de promouvoir l'adhésion sur celle-ci d'un film d'un copolymère de pyrrole et de pyrrole fonctionnalisé par électropolymérisation,
- b) électropolymérisation collective, de manière à former un film électropolymérisé d'un copolymère de

## 3a

Le document US-A-5 837 859 décrit une biopuce comprenant un ensemble de microélectrodes sur lesquelles sont électropolymérisés du pyrrole et du pyrrole fonctionnalisé. Le document Nucleic Acids Research, vol. 22(15), 1994, pp. 2915-2921 décrit la 5 préparation d'une matrice d'ADN par une copolymérisation électrochimique de pyrrole et d'oligonucléotides portant un groupe pyrrole sur une multitude d'électrodes formées par des technologies de 10 microélectronique. Les documents Biosensor & Bioelectronics, vol. 13, 1998, pp. 629-634 and Analytical Biochemistry, vol. 255, 1998, pp. 188-194 décrivent des polymères électroconducteurs pour la construction de matrices d'ADN ou de peptides sur une 15 puce à base de silicium. Le support comprend une matrice de microélectrodes formées sur un substrat de silicium par des technologies de microélectronique. Le document Langmuir, vol. 11, 1995, pp. 1768-1776 décrit un procédé pour identifier des structures moléculaires 20 dans un échantillon. En particulier, il décrit une modification chimique permettant d'augmenter l'adhésion d'un film de polypyrrole formé sur des matrices d'électrodes interdigitées d'or sur du verre borosilicaté et/ou du silicium oxydé.

25

**REVENDEICATIONS**

1. Procédé de fabrication d'une ébauche de biopuce, caractérisé en ce qu'il comprend les étapes suivantes successivement :

- 5 a) structuration d'un substrat de manière à obtenir sur ce substrat des microcuvettes comprenant dans leur fond une couche d'un matériau capable d'initier et de promouvoir l'adhésion sur celle-ci d'un film d'un copolymère de pyrrole et de pyrrole fonctionnalisé
- 10 par électropolymérisation,
- b) électropolymérisation collective, de manière à former un film électropolymérisé d'un copolymère de pyrrole et de pyrrole fonctionnalisé sur le fond desdites microcuvettes, sur la couche dudit
- 15 matériau, à partir d'une solution de pyrrole et de pyrrole fonctionnalisé, en présence de réactifs chimiques appropriés pour ladite électropolymérisation.

2. Procédé de fabrication d'une biopuce

20 comprenant la fabrication d'une ébauche de biopuce selon les étapes a) et b) de la revendication 1 et comprenant ensuite une étape c) de fixation directe, ou indirecte, d'une sonde biologique sur le pyrrole fonctionnalisé, par injection d'une solution de la

25 sonde biologique, au choix dans une ou plusieurs microcuvette(s) en présence de réactifs chimiques nécessaires à la fixation directe, ou indirecte, de cette sonde biologique sur le pyrrole fonctionnalisé.

3. Procédé selon la revendication 1, dans lequel

30 la couche du matériau capable d'initier et de promouvoir l'adhésion du film de polypyrrole par

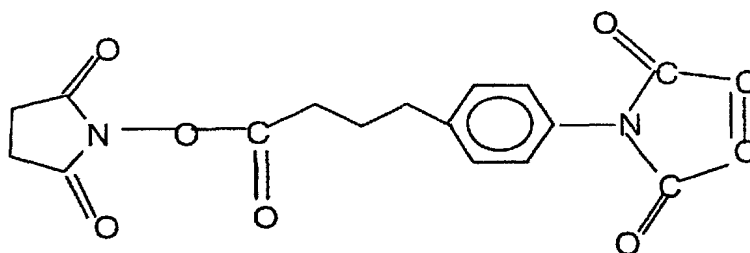
comportant une première fonction permettant sa fixation sur le pyrrole fonctionnalisé, et une deuxième fonction permettant la fixation de la sonde biologique sur ledit agent de réticulation.

5

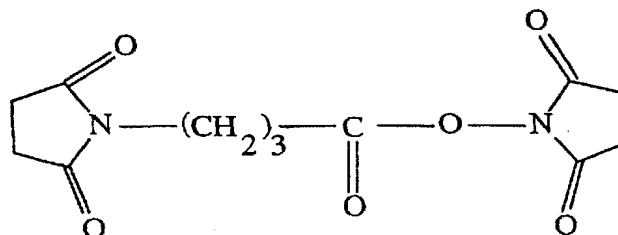
14. Procédé selon la revendication 13, dans lequel l'agent de réticulation est choisi dans un ensemble comprenant un dialdéhyde, un diisothiocyanate, un diacide, un anhydride succinique.

10

15. Procédé selon la revendication 13, dans lequel l'agent de réticulation est choisi parmi un des composés suivants :



15





## TRAITE DE COOPERATION EN MATIERE DE BREVETS

PCT

NOTIFICATION RELATIVE  
A LA PRESENTATION OU A LA TRANSMISSION  
DU DOCUMENT DE PRIORITE

(instruction administrative 411 du PCT)

Expéditeur : le BUREAU INTERNATIONAL

Destinataire:

DES TERMES, Monique  
BREVATOME  
3, rue du Docteur Lancereaux  
F-75008 Paris  
FRANCE

Date d'expédition (jour/mois/année) 14 janvier 2000 (14.01.00)	<b>NOTIFICATION IMPORTANTE</b>
Référence du dossier du déposant ou du mandataire B 13193.3 EE	
Demande internationale no PCT/FR99/03141	
Date de publication internationale (jour/mois/année) Pas encore publiée	
Date du dépôt international (jour/mois/année) 15 décembre 1999 (15.12.99)	
Date de priorité (jour/mois/année) 16 décembre 1998 (16.12.98)	
Déposant COMMISSARIAT A L'ENERGIE ATOMIQUE etc	

1. La date de réception (sauf lorsque les lettres "NR" figurent dans la colonne de droite) par le Bureau international du ou des documents de priorité correspondant à la ou aux demandes énumérées ci-après est notifiée au déposant. Sauf indication contraire consistant en un astérisque figurant à côté d'une date de réception, ou les lettres "NR", dans la colonne de droite, le document de priorité en question a été présenté ou transmis au Bureau international d'une manière conforme à la règle 17.1.a) ou b).
2. Ce formulaire met à jour et remplace toute notification relative à la présentation ou à la transmission du document de priorité qui a été envoyée précédemment.
3. Un **astérisque(\*)** figurant à côté d'une date de réception dans la colonne de droite signale un document de priorité présenté ou transmis au Bureau international mais de manière non conforme à la règle 17.1.a) ou b). Dans ce cas, **l'attention du déposant est appelée** sur la règle 17.1.c) qui stipule qu'aucun office désigné ne peut décider de ne pas tenir compte de la revendication de priorité avant d'avoir donné au déposant la possibilité de remettre le document de priorité dans un délai raisonnable en l'espèce.
4. Les **lettres "NR"** figurant dans la colonne de droite signalent un document de priorité que le Bureau international n'a pas reçu ou que le déposant n'a pas demandé à l'office récepteur de préparer et de transmettre au Bureau international, conformément à la règle 17.1.a) ou b), respectivement. Dans ce cas, **l'attention du déposant est appelée** sur la règle 17.1.c) qui stipule qu'aucun office désigné ne peut décider de ne pas tenir compte de la revendication de priorité avant d'avoir donné au déposant la possibilité de remettre le document de priorité dans un délai raisonnable en l'espèce.

<u>Date de priorité</u>	<u>Demande de priorité n°</u>	<u>Pays, office régional ou office récepteur selon le PCT</u>	<u>Date de réception du document de priorité</u>
16 déce 1998 (16.12.98)	98/15883	FR	28 déce 1999 (28.12.99)

Bureau international de l'OMPI 34, chemin des Colombettes 1211 Genève 20, Suisse  no de télécopieur (41-22) 740.14.35	Fonctionnaire autorisé:  Margret Fourne-Godbersen no de téléphone (41-22) 338.83.38
---	--

# TRAITÉ DE COOPERATION EN MATIÈRE DE BREVETS

**PCT**

## AVIS INFORMANT LE DEPOSANT DE LA COMMUNICATION DE LA DEMANDE INTERNATIONALE AUX OFFICES DESIGNES

(règle 47.1.c), première phrase, du PCT)

Expéditeur: le BUREAU INTERNATIONAL

Destinataire:

DES TERMES, Monique  
BREVATOME  
3, rue du Docteur Lancereaux  
F-75008 Paris  
FRANCE

**BREVATOME**

**30 JUIN 2000**

3, rue du Docteur Lancereaux  
75008 PARIS

Date d'expédition (jour/mois/année) 22 juin 2000 (22.06.00)		<b>AVIS IMPORTANT</b>	
Référence du dossier du déposant ou du mandataire B 13193.3 EE			
Demande internationale no PCT/FR99/03141	Date du dépôt international (jour/mois/année) 15 décembre 1999 (15.12.99)	Date de priorité (jour/mois/année) 16 décembre 1998 (16.12.98)	
Déposant COMMISSARIAT A L'ENERGIE ATOMIQUE etc			

1. Il est notifié par la présente qu'à la date indiquée ci-dessus comme date d'expédition de cet avis, le Bureau international a communiqué, comme le prévoit l'article 20, la demande internationale aux offices désignés suivants:  
JP,US

Conformément à la règle 47.1.c), troisième phrase, ces offices acceptent le présent avis comme preuve déterminante du fait que la communication de la demande internationale a bien eu lieu à la date d'expédition indiquée plus haut, et le déposant n'est pas tenu de remettre de copie de la demande internationale à l'office ou aux offices désignés.

2. Les offices désignés suivants ont renoncé à l'exigence selon laquelle cette communication doit être effectuée à cette date:  
EP

La communication sera effectuée seulement sur demande de ces offices. De plus, le déposant n'est pas tenu de remettre de copie de la demande internationale aux offices en question (règle 49.1a-bis)).

3. Le présent avis est accompagné d'une copie de la demande internationale publiée par le Bureau international le 22 juin 2000 (22.06.00) sous le numéro WO 00/36145

### RAPPEL CONCERNANT LE CHAPITRE II (article 31.2)a) et règle 54.2)

Si le déposant souhaite reporter l'ouverture de la phase nationale jusqu'à 30 mois (ou plus pour ce qui concerne certains offices) à compter de la date de priorité, la demande d'examen préliminaire international doit être présentée à l'administration compétente chargée de l'examen préliminaire international avant l'expiration d'un délai de 19 mois à compter de la date de priorité.

Il appartient exclusivement au déposant de veiller au respect du délai de 19 mois.

Il est à noter que seul un déposant qui est ressortissant d'un Etat contractant du PCT lié par le chapitre II ou qui y a son domicile peut présenter une demande d'examen préliminaire international.

### RAPPEL CONCERNANT L'OUVERTURE DE LA PHASE NATIONALE (article 22 ou 39.1))

Si le déposant souhaite que la demande internationale procède en phase nationale, il doit, dans le délai de 20 mois ou de 30 mois, ou plus pour ce qui concerne certains offices, accomplir les actes mentionnés dans ces dispositions auprès de chaque office désigné ou élu.

Pour d'autres informations importantes concernant les délais et les actes à accomplir pour l'ouverture de la phase nationale, voir l'annexe du formulaire PCT/IB/301 (Notification de la réception de l'exemplaire original) et le volume II du Guide du déposant du PCT.

Bureau international de l'OMPI 34, chemin des Colombettes 1211 Genève 20, Suisse	Fonctionnaire autorisé  J. Zahra
no de télécopieur (41-22) 740.14.35	no de téléphone (41-22) 338.83.38

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No

PCT/FR 99/03141

## A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

IPC 7 C12Q1/68 G01N33/543

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

## B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

IPC 7 C12Q G01N

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

## C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category °	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	US 5 837 859 A (ROGET ANDRE ET AL) 17 November 1998 (1998-11-17)	1-6, 10-17, 19,20
Y	the whole document ---	8
X	LIVACHE T ET AL.: "Preparation of a DNA matrix via an electrochemically directed copolymerization of pyrrole and oligonucleotides bearing a pyrrole group" NUCLEIC ACIDS RESEARCH, vol. 22, no. 15, 1994, pages 2915-2921, XP002114812 the whole document --- -/--	1,5,6, 10-14, 16,17, 19,20



Further documents are listed in the continuation of box C.



Patent family members are listed in annex.

° Special categories of cited documents :

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier document but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.

"G" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

15 March 2000

Date of mailing of the international search report

22/03/2000

Name and mailing address of the ISA

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2  
NL - 2280 HV Rijswijk  
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,  
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Knehr, M

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No

PCT/FR 99/03141

## C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	LIVACHE T ET AL.: "Electroconducting polymers for the construction of DNA or peptide arrays on silicon chips" BIOSENSORS & BIOELECTRONICS, vol. 13, 1998, pages 629-634, XP000869823 the whole document ---	1-3, 19, 20
X	LIVACHE T ET AL.: "Polypyrrole DNA chip on a silicon device: Example of hepatitis C virus typing" ANALYTICAL BIOCHEMISTRY, vol. 255, 1998, pages 188-194, XP002114813 abstract ---	1-3, 19, 20
Y	page 188, column 1, paragraph 1 -page 190, column 1, paragraph 1; figures 1,2 page 191, column 1, paragraph 1 -page 192, column 2, paragraph 3 ---	6, 8, 10
Y	EP 0 229 993 A (POLAROID CORP) 29 July 1987 (1987-07-29)  the whole document ---	1-4, 6-8, 10-12, 19, 20
Y	US 5 653 939 A (KOSICKI BERNARD B ET AL) 5 August 1997 (1997-08-05) abstract column 11, line 11 - line 65; claims 1-9; figures 15, 16, 21, 22 ---	1-4
Y	EP 0 588 721 A (COMMISSARIAT ENERGIE ATOMIQUE) 23 March 1994 (1994-03-23) the whole document ---	1-3, 7
Y	US 5 810 989 A (KRIHAK MICHAEL ET AL) 22 September 1998 (1998-09-22) the whole document ---	1-3, 10
Y	SIMON R A ET AL.: "Synthesis and characterization of a new surface derivatizing reagent to promote the adhesion of polypyrrole films to n-type silicon photoanodes: N-(3-(Trimethoxysilyl)propyl)pyrrole" JOURNAL OF THE AMERICAN CHEMICAL SOCIETY, vol. 104, 1982, pages 2031-2034, XP002114814 cited in the application the whole document ---	8, 9, 11, 12
	---	
	-/--	

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No

PCT/FR 99/03141

## C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	GUISEPPI-ELIE A AND WILSON A M: "Specific immobilization of electropolymerized polypyrrole thin films onto interdigitated microsensor electrode arrays" LANGMUIR, vol. 11, 1995, pages 1768-1776, XP002114815 abstract	8,9,11, 19,20
A	--- NISHIZAWA M ET AL.: "Electrochemical preparation of ultrathin polypyrrole film at microarray electrodes" JOURNAL OF PHYSICAL CHEMISTRY, vol. 95, 1991, pages 9042-9044, XP002114816 the whole document	
A	--- EP 0 659 794 A (LORRAINE LAMINAGE) 28 June 1995 (1995-06-28) the whole document	
A	--- EP 0 038 244 A (COMMISSARIAT ENERGIE ATOMIQUE) 21 October 1981 (1981-10-21) the whole document	
P,X	--- BIDAN G ET AL.: "Conducting polymers as a link between biomolecules and microelectronics" SYNTHETIC METALS, vol. 102, 1999, pages 1363-1365, XP002114817 the whole document -----	1,2,19, 20

# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No

PCT/FR 99/03141

Patent document cited in search report		Publication date	Patent family member(s)	Publication date
US 5837859	A	17-11-1998	FR 2703359 A	07-10-1994
			AT 159028 T	15-10-1997
			DE 69406119 D	13-11-1997
			DE 69406119 T	26-03-1998
			DK 691978 T	25-05-1998
			EP 0691978 A	17-01-1996
			ES 2110228 T	01-02-1998
			WO 9422889 A	13-10-1994
			GR 3025738 T	31-03-1998
			JP 8508311 T	03-09-1996
EP 0229993	A	29-07-1987	CA 1311715 A	22-12-1992
			JP 62181328 A	08-08-1987
			US 4724053 A	09-02-1988
US 5653939	A	05-08-1997	US 5846708 A	08-12-1998
			EP 0638173 A	15-02-1995
			JP 7508831 T	28-09-1995
			WO 9322678 A	11-11-1993
			AT 176324 T	15-02-1999
			DE 69228291 D	11-03-1999
			DE 69228291 T	02-06-1999
			EP 0543550 A	26-05-1993
			JP 5322817 A	07-12-1993
			US 5532128 A	02-07-1996
			US 5670322 A	23-09-1997
			US 5891630 A	06-04-1998
EP 0588721	A	23-03-1994	FR 2696043 A	25-03-1994
			JP 6188109 A	08-07-1994
US 5810989	A	22-09-1998	NONE	
EP 0659794	A	28-06-1995	FR 2714077 A	23-06-1995
			AT 177444 T	15-03-1999
			DE 69416971 D	15-04-1999
			DE 69416971 T	07-10-1999
			ES 2131654 T	01-08-1999
			JP 7331491 A	19-12-1995
			US 5522981 A	04-06-1996
EP 0038244	A	21-10-1981	FR 2480314 A	16-10-1981